

**PENGARUH PEMBERIAN ANTIOKSIDAN TERHADAP
GAMBARAN MIKROSKOPIS DAN SIFAT KELISTRIKAN
DARI ORGAN GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG
TERPAPAR HAIR SPRAY**

SKRIPSI

Oleh:
ERNA INDAH MARGARET
155090301111023



JURUSAN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS DAN SIFAT KELISTRIKAN DARI ORGAN GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERPAPAR HAIR SPRAY

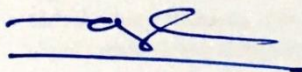
oleh:

Erna Indah Margaret
155090301111023

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji Skripsi Jurusan Fisika Universitas Brawijaya pada tanggal **19 JUN 2019**

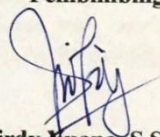
Dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang fisika

Pembimbing I



Drs. Unggul P. Juswono, M.Sc
NIP. 196501111990021002

Pembimbing II



Firdy Yuana, S.Si., M.Si
NIP. 198003292005022007



Mengetahui,

Ketua Jurusan Fisika

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Prof. Dr. rer. nat. Muhammad Nurhuda
NIP. 19640910199021001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Erna Indah Margaret

NIM : 155090301111023

Jurusan : Fisika

Penulis Skripsi berjudul :

“Pengaruh Pemberian Antioksidan Terhadap Gambaran Mikroskopis dan Sifat Kelistrikan dari Organ Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Hair spray”

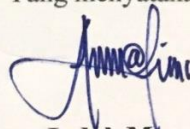
Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari Skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain. Nama-nama yang termaksud isi dan tertulis di daftar pustaka digunakan sebagai referensi pendukung dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata Skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 28 Juni 2019

Yang menyatakan



Erna Indah Margaret

NIM. 155090301111023

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat, berkat dan kesehatan yang telah diberikan kepada penulis sehingga Skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Antioksidan Terhadap Gambaran Mikroskopis dan Sifat Kelistrikan dari Organ Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar *Hairspray*” dapat terselesaikan dengan baik.

Dukungan dan bantuan dari orang-orang terdekat tidak lepas selama pembuatan Skripsi ini berlangsung, maka dari itu penulis menyampaikan rasa terimakasih sedalam dalamnya kepada:

1. Kedua orang tua yang selalu mendoakan dan mendukung baik moril ataupun materi.
2. Bapak Drs. Unggul P. Juswono, M.Sc selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Firdy Yuana, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang selalu memberikan bimbingan, dukungan, semangat, kritik dan saran dalam proses menyelesaikan skripsi.
3. Prof. Dr.rer.nat. Muhammad Nurhuda, selaku Ketua Jurusan Fisika Universitas Brawijaya Malang.
4. Listiana Kartika D, Yuristia Prianputri, Resti Widayanti dan Intan Nur H sebagai motivator dan teman kelompok terbaik dalam menyelesaikan skripsi.
5. Sahabat dan teman yang telah membantu dan mewarnai kehidupan kuliah penulis.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dikarenakan keterbatasan pengalaman maupun pengetahuan yang dimiliki penulis. Oleh karena itu, besar harapan penulis akan adanya kritik, saran maupun masukan yang membangun dari berbagai pihak untuk menyempurnakan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi banyak orang. Terima Kasih.

Malang, 23 April 2019

Penulis

PENGARUH PEMBERIAN ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS DAN SIFAT KELISTRIKAN DARI ORGAN GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERPAKAI HAIR SPRAY

ABSTRAK

Hairspray merupakan bahan kosmetik dalam bentuk gas yang digunakan untuk mempertahankan bentuk rambut yang telah ditata. Salah satu bahan aktif yang terdapat pada *hairspray* adalah *Cocamide DEA* yang biasanya digunakan sebagai penguat pada kosmetik dan produk rambut. *Cocamide DEA* jika terhirup dapat memicu terbentuknya toksik atau radikal bebas didalam tubuh khususnya organ ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian antioksidan dengan dosis yang berbeda-beda dilihat dari gambaran mikroskopis dan sifat kelistrikan organ ginjal mencit yang terpapar oleh *hairspray*. Pengujian sifat kelistrikan menggunakan alat ukur Multimeter. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan plat sejajar sehingga dapat diketahui nilai resistivitas, konduktivitas dan konstanta dielektrik dari suatu bahan. Pengujian jenis radikal bebas menggunakan alat *Electro Spin Resonance* (ESR). Selain itu dilakukan juga uji tambahan dengan pengamatan mikroskopis organ ginjal mencit. Berdasarkan pengujian yang dilakukan diperoleh jenis radikal bebas yang terdeteksi pada organ ginjal mencit adalah O_2 akibat bahan aktif pada *hairspray*. Nilai resistivitas, konstanta dielektrik dan impedansi mengalami kenaikan kemudian penurunan seiring jumlah dosis antioksidan yang diberikan semakin besar.

Kata kunci : *hairspray*, antioksidan, ginjal, radikal bebas, kelistrikan

THE EFFECT OF ANTIOXIDANT ON MICROSCOPIC IMAGES AND ELECTRICAL PROPERTIES OF KIDNEY MICE ORGANS (*Mus musculus*) EXPOSED HAIR SPRAY

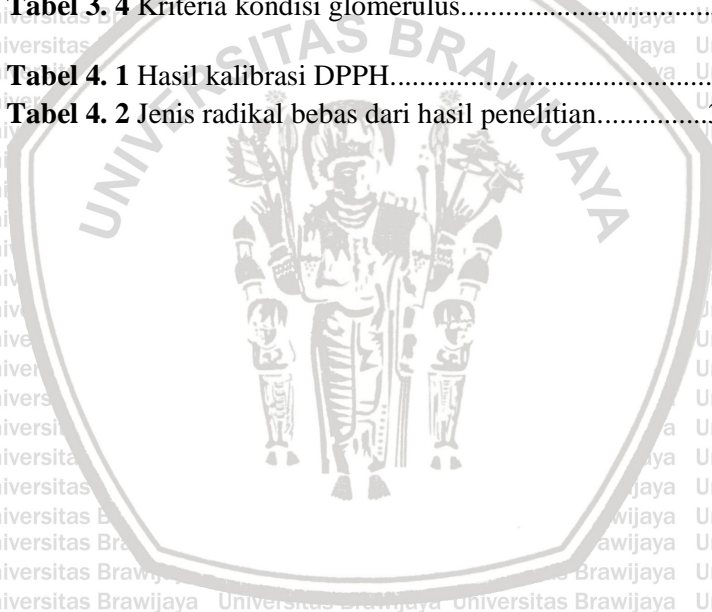
ABSTRACT

Hairspray is a cosmetic ingredient in the form of a gas that is used to obtain the hair shape that has been placed. One of the active ingredients in hairspray is Cocamide DEA, which is commonly used as an enhancer in cosmetics and hair products. Cocosamide DEA, when inhaled, can cause the formation of toxic or free radicals in the body, especially in the kidneys. This study aims to determine the effect of administering antioxidants at different doses, as evidenced by the microscopic picture and electrical properties of the renal organs of mice exposed to hairspray. Testing the electrical properties with a multimeter meter. Measurements are performed on parallel plates to know the resistivity, conductivity and dielectric constant of a material. Testing of radical types by means of Electro Spin Resonance (ESR). In addition, additional tests were performed with microscopic observations of mouse organs. Based on the tests carried out, the type of free radicals detected in the kidney organs of mice is O_2^- due to the active ingredient in hair spray. The resistivity, dielectric constant, and impedance increase and decrease as the number of antioxidant doses administered increases.

Keywords: *hair spray, antioxidants, kidneys, free radicals, electricity*

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kandungan hair spray dalam bentuk aerosol.....	5
Tabel 2. 2 Kandungan senyawa kimia minyak cengkeh yang berasal dari Indonesia.....	8
Tabel 2. 3 Hasil uji kualitatif fitokimia ekstrak kulit buah naga merah.....	11
Tabel 2. 4 Kelompok Oksiden Reaktif.....	19
Tabel 3. 1 Pengelompokkan hewan uji coba mencit.....	26
Tabel 3. 2 Konversi dosis manusia ke dosis hewan.....	27
Tabel 3. 3 Konversi dosis manusia ke dosis mencit.....	27
Tabel 3. 4 Kriteria kondisi glomerulus.....	30
Tabel 4. 1 Hasil kalibrasi DPPH.....	35
Tabel 4. 2 Jenis radikal bebas dari hasil penelitian.....	38



DAFTAR ISI

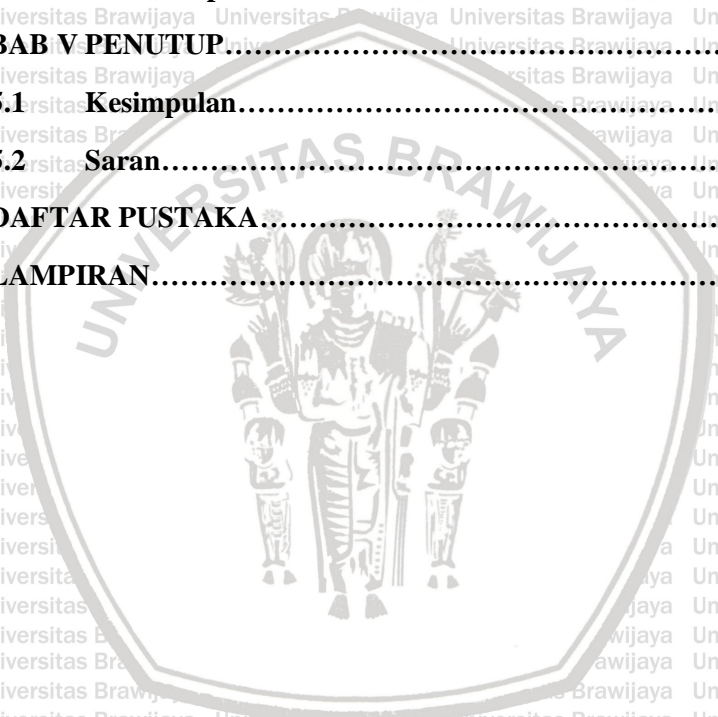
LEMBAR PENGESAHAN.....	i
LEMBAR PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Hair spray.....	5
2.2 Antioksidan.....	6
2.3 Cengkeh.....	6
2.4 Bawang Dayak.....	8
2.5 Daun Kelor.....	9
2.6 Buah Naga Merah.....	10

2.7	Kacang Kedelai.....	11
2.8	Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	12
2.9	Ginjal.....	13
2.9.1	Anatomi Ginjal Mencit.....	13
2.9.2	Histologi Ginjal Mencit.....	14
2.10	Kelistrikan.....	14
2.10.1	Resistivitas.....	15
2.10.2	Konduktivitas.....	15
2.10.3	Konstanta Dielektrik.....	15
2.10.4	Impedansi Listrik.....	16
2.11	Analogi Sel Sebagai Kapasitor.....	16
2.12	Radikal Bebas.....	18
2.13	Efek Zeeman.....	19
2.14	ESR.....	19
2.15	Kreatinin.....	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		23
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.2	Alat dan Bahan Penelitian.....	23
3.3	Tahapan Penelitian.....	23
3.4	Cara Kerja.....	25
3.4.1	Pengelompokkan Hewan Uji Coba Mencit.....	25
3.4.2	Penentuan dan Pemberian Dosis Antioksidan.....	26
3.4.3	Penyemprotan Hairspray pada Hewan Uji Coba Mencit.....	28
3.4.4	Pembedahan Hewan Uji Coba Mencit.....	28



3.4.5	Pembuatan preparat histopatologi organ ginjal.....	29
3.4.6	Pengamatan mikroskopis preparat organ ginjal menciit	29
3.4.7	Perhitungan Kerusakan Organ Ginjal.....	30
3.4.8	Pengamatan ESR.....	30
3.4.8	Pengamatan sifat kelistrikan organ ginjal menciit.....	33
3.4.9	Analisa data.....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		35
4.1	Kalibrasi Alat ESR.....	35
4.2	Data Hasil Penelitian.....	36
4.2.1	Jenis Radikal Bebas pada Organ Ginjal Menciit yang Telah Diberikan Perlakuan.....	37
4.2.2	Uji Tambahan.....	39
4.2.2.1	Pengamatan Mikroskopis Organ Ginjal Menciit.....	39
4.2.2.2	Uji Kreatinin.....	43
4.2.3	Pengujian Kelistrikan.....	44
4.2.3.1	Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Resistivitas.....	44
4.2.3.2	Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Konduktivitas.....	45
4.2.3.3	Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Konstanta Dielektrik.....	47
4.2.3.4	Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Impedansi.....	48
4.3	Pembahasan.....	49

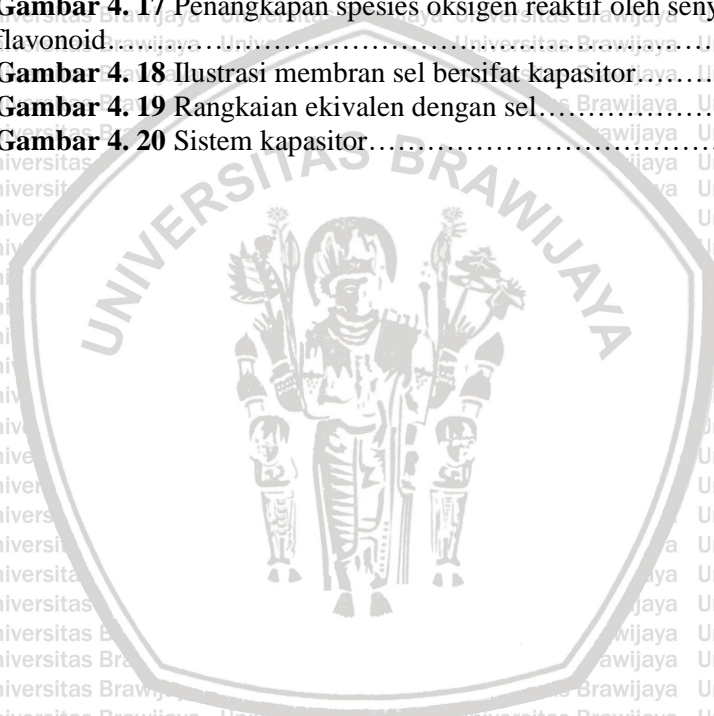
4.3.1	Proses Terbentuknya Radikal Bebas.....	49
4.3.2	Mekanisme Pengikatan Radikal Bebas oleh Antioksidan.....	52
4.3.3	Hubungan Sifat Kelistrikan dengan Kerusakan Sel.....	54
4.3.4	Hubungan Sifat Kelistrikan dengan Gambaran Mikroskopis.....	54
BAB V PENUTUP.....		57
5.1	Kesimpulan.....	57
5.2	Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA.....		59
LAMPIRAN.....		69



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Hair spray.....	6
Gambar 2. 2 Cengkeh (<i>Oleum caryophylli</i>).....	7
Gambar 2. 3 Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i>).....	8
Gambar 2. 4 Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	9
Gambar 2. 5 Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	10
Gambar 2. 6 Kacang Kedelai (<i>Glycine max</i>).....	11
Gambar 2. 7 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	12
Gambar 2. 8 Anatomi ginjal.....	13
Gambar 2. 9 Histologi organ ginjal mencit normal.....	14
Gambar 2. 10 Ilustrasi membran sel bersifat kapasitor.....	20
Gambar 2.11 Rangkaian ekivalen dengan sel.....	19
Gambar 2.12 Sistem kapasitor.....	19
Gambar 2.13 Rangkaian ESR.....	21
Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian.....	24
Gambar 3. 2 Diagram alir proses pembedahan mencit.....	28
Gambar 3. 3 Diagram alir pembuatan preparat untuk uji mikroskopis.....	29
Gambar 3. 4 Electron Spin Resonance.....	31
Gambar 3. 5 Alur pengamatan sampel dengan ESR.....	32
Gambar 4. 1 Kurva Lissajous kalibrasi DPPH.....	36
Gambar 4. 2 (a) Kurva ESR kelompok kontrol, (b) Kurva ESR kelompok perlakuan.....	45
Gambar 4. 3 Grafik hubungan antioksidan terhadap instensitas radikal bebas.....	46
Gambar 4. 4 Pengamatan mikroskopis ginjal mencit perlakuan kontrol (K).....	47
Gambar 4. 5 Pengamatan mikroskopis ginjal mencit perlakuan hair spray (H).....	48
Gambar 4. 6 Pengamatan mikroskopis ginjal mencit perlakuan dosis 147,42 mg (HA3).....	49
Gambar 4. 7 Hubungan kerusakan glomerulus terhadap dosis antioksidan.....	37
Gambar 4. 8 Hubungan kerusakan tubulus terhadap dosis antioksdian.....	39
Gambar 4. 9 Hubungan uji kreatinin dengan perlakuan.....	40
Gambar 4. 10 Grafik hubungan antioksidan terhadap resistivitas.....	40

Gambar 4. 11	Grafik hubungan antioksidan terhadap konduktivitas	41
Gambar 4. 12	Grafik hubungan antioksidan dengan konstanta dielektrik	42
Gambar 4. 13	Hubungan frekuensi terhadap frekuensi	42
Gambar 4. 14	Hubungan dosis antioksidan terhadap nilai impedansi pada frekuensi 1000 Hz	43
Gambar 4. 15	Struktur anion superoksida	51
Gambar 4. 16	Turunan ROS	52
Gambar 4. 17	Penangkapan spesies oksigen reaktif oleh senyawa flavonoid	53
Gambar 4. 18	Ilustrasi membran sel bersifat kapasitor	57
Gambar 4. 19	Rangkaian ekuivalen dengan sel	57
Gambar 4. 20	Sistem kapasitor	58



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rambut merupakan mahkota bagi semua orang, khususnya bagi seorang wanita. Rambut terdiri atas akar dan tangkai rambut. Akar rambut dialiri oleh darah melalui saraf. Oleh sebab itu, rambut sensitif terhadap cuaca, lingkungan, maupun zat-zat kimia yang terpapar di bagian rambut yang digunakan sebagai tata rias rambut (Sari & Wibowo, 2016). Salah satu kosmetik yang digunakan sebagai tata rias rambut adalah *hairspray*.

Hair spray merupakan kosmetik dalam bentuk gas (Rejeki, Farmasi, & Setia, 2010). *Hairspray* digunakan untuk mempertahankan bentuk rambut yang telah ditata. *Hairspray* mengandung alkohol yang jika disemprotkan ke bagian rambut akan mengenai kulit kepala. Molekul kimia yang masuk kedalam tubuh manusia dapat membentuk radikal bebas dan menyebabkan penyakit-penyakit seperti kanker, penyempitan pembuluh darah, penyakit gangguan paru-paru, hati, ginjal yang sering dikaitkan dengan radikal bebas (Rejeki et al., 2010). Selain alkohol, kandungan lain yang terdapat pada *hairspray* adalah octylacrylamide / acrylates / butylaminomethyl acrylates copolymer sebagai polimer, dan aminomethyl propanal (AMP), cyclomethicone, dan dimethicone colpolyol (DMCP) sebagai bahan lain (Wickett, Sramek, Trobaugh, & Johnson, 1992). Salah satu bahan *hairspray* yang berbahaya adalah *Cocamide DEA*. *Cocamide DEA* biasanya digunakan sebagai penguat pada kosmetik, produk rambut dan juga kulit. *Cocamide DEA* memiliki kelompok radikal asam yang ketika ditumpuk akan menjadi jenuh (Anoze, 2008).

Radikal bebas adalah suatu senyawa asing yang masuk kedalam tubuh dan merusak sistem imunitas tubuh. Radikal bebas dapat muncul akibat berbagai proses kimia yang kompleks dalam tubuh, polutan lingkungan, radiasi zat-zat kimia, racun, makanan cepat saji, dan makanan yang digoreng pada suhu tinggi (Selawa, Runtuwene, & Citraningtyas, 2013). Radikal bebas tidak hanya dalam bentuk senyawa tetapi terdapat pula dalam bentuk unsur, molekul dan atom. Radikal bersifat sangat reaktif karena cenderung mengambil elektron dari sel lain secara paksa (Werdhasari, 2014).

Antioksidan merupakan suatu senyawa kimia yang dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh antioksidan antara lain karoten, likopen, vitamin C, vitamin E, vitamin A, fenol, dan flavonoid.. Antioksidan banyak terdapat pada buah-buahan, sayur-sayuran, biji-bijian dan hewani (Silvia, Katharina, Hartono, Anastasia, & Susanto, 2016). Cara kerja antioksidan yaitu mendonorkan elektronnya secara sukarela kepada elektron yang tidak memiliki pasangan sehingga senyawa oksidan dapat dihambat. Sebenarnya di dalam tubuh manusia sendiri sudah terbentuk antioksidan, tetapi masih kurang jika zat berbahaya dari luar masuk ke dalam tubuh sehingga dibutuhkan antioksidan buatan yang bisa didapatkan dari buah, sayur, dll (Prof.Dr. Ir. Kesuma Sayuti & Dr. Ir. Rina Yenrina, n.d.).

Melalui pemberian *hairspray* dan antioksidan kepada mencit, maka akan menghasilkan efek pada jaringan tubuh mencit. Apakah jaringan tidak mengalami kerusakan atau mengalami kerusakan. Sifat kelistrikan pada jaringan ini dibagi menjadi 3 jenis, yaitu konduktivitas, resistivitas, dan permitivitas.

Untuk menganalisis respon jaringan terhadap stimulasi listrik dibutuhkan data spesifik konduktivitas dan permitivitas dari jaringan atau organ. Konduktivitas dan permitivitas dapat terlihat pada bagian *extracellular*. Hasil yang didapatkan dari konduktivitas dan permitivitas pun dapat berbeda-beda tergantung bentuk sel dan distribusinya di dalam jaringan yang memiliki sifat berbeda-beda (Miklavcic & Pavselj, 2006). Sedangkan resistivitas merupakan sifat dielektrik yang dapat terlihat pada bagian sitoplasma *intracellular* (Voigt, Katscher, & Doessel, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka diperoleh rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pemberian antioksidan cengkeh (*Syzygium aromaticum*), bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*), daun kelor (*Moringa oleifera*), buah naga (*Hylocereus undatus*) dan kacang kedelai (*Glycine max*) terhadap gambaran mikroskopis dan sifat kelistrikan organ ginjal dari mencit (*Mus musculus*) yang terpapar *hair spray*.

1.3 Batasan Masalah

Adapun beberapa hal yang menjadi batasan masalah dalam penelitian ini yaitu *hair spray* aerosol jenis X, dengan objek yang digunakan adalah mencit berjenis kelamin jantan karena mencit jantan tidak dipengaruhi oleh fluktuasi hormon dan berusia 2-3 bulan karena pada usia tersebut mencit dapat dikatakan dewasa. Antioksidan yang digunakan adalah campuran ekstrak bawang dayak, cengkeh, daun kelor, kulit buah naga merah dan kacang kedelai dengan perbandingan 1:1:1:1:1. Organ yang diteliti adalah organ ginjal mencit. Ginjal dipilih karena ginjal merupakan sistem ekskresi utama di dalam tubuh. Pengamatan organ ginjal mencit dilakukan pada 4 sifat kelistrikan yang teridir dari konduktivitas, resistivitas, konstanta dilektrik dan impedansi yang dapat menggambarkan kondisi dari organ ginjal.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian antioksidan cengkeh, bawang dayak, daun kelor, kulit buah naga merah dan kacang kedelai pada organ ginjal dari mencit yang terpapar *hair spray* berdasarkan citra mikroskopis dan sifat kelistrikannya.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai kajian ilmiah kepada masyarakat tentang bahaya dari kandungan yang terkandung didalam *hairspray*, sebagai sumber informasi kepada pembaca tentang pengaruh pemberian antioksidan pada tubuh serta sebagai acuan penggunaan *hair spray* dalam kehidupan sehari-hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hair spray

Hair spray (Gambar 2.1) adalah kosmetik yang digunakan pada rambut untuk mempertahankan bentuk rambut yang telah ditata agar tetap pada letaknya. *Hair spray* dibentuk dalam sediaan aerosol (*spray* atau semprot), sehingga *hair spray* merupakan kosmetik dalam bentuk gas untuk menguatkan rambut yang sudah ditata (Rejeki et al., 2010). Menurut penelitian yang telah dilakukan Evans dkk, komposisi *hair spray* meliputi sekitar 4% kopolimer, 6-12% air, 31 % hidrofluorocarbon, dan 6% dari propane/isobutane (Evans et al., 2015). Tabel kandungan *hair spray* dalam bentuk aerosol Tabel 2.1

Tabel 2. 1 Kandungan *hair spray* dalam bentuk aerosol.

Component	Weight (%)
Silicone Hair spray Composition	
SD40 Alcohol	87,29
Premix I	2,30
PVP/VA copolymer (50/50)	10,00
Dimethicone Copolyol	0,30
Octyl Salicylate	0,01
Keratin Amino Acids	0,001
Perfume	0,01
Total	100%
Premix I	
D5 Cyclomethicone	4,35
Siloxane Resin	4,35
Polydimethyl Siloxane Gum	1,74
DRO Water	11,30
Lauramine Oxide	43,48
Cocamide DEA	34,78
Total	100%

(Murphy, 1991)

Dari bahan-bahan *hair spray* yang telah disebutkan diatas, *Cocamide DEA* adalah bahan yang akan dilihat dan diteliti pada

penelitian ini. *Cocamide DEA* biasanya digunakan sebagai penguat pada kosmetik, produk rambut dan juga kulit. *Cocamide DEA* memiliki kelompok radikal asam yang ketika ditumpuk akan menjadi jenuh (Anoze, 2008).



Gambar 2. 1 *Hair spray.*

2.2 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat membuat radikal bebas menjadi stabil dan tidak reaktif (Adawiah, Sukandar, & Muawanah, 2015). Mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas, begitulah cara kerja antioksidan untuk membuat radikal bebas tidak reaktif. Terdapat dua jenis antioksidan, yang pertama antioksidan endogen yang merupakan jenis antioksidan yang diproduksi oleh tubuh manusia sendiri dan yang kedua antioksidan eksogen yang merupakan jenis antioksidan dari luar tubuh manusia. Antioksidan eksogen merupakan antioksidan alami yang bisa didapatkan dari makanan karena berbagai antioksidan telah terdapat secara alamiah terutama dalam sayur-sayuran, buah-buahan, dan rempah (Khaira, 2010). Kandungan antioksidan alami yaitu vitamin C, vitamin E, vitamin A, asam-asam fenol, polifenol dan flavonoid. (Umayah & Moch. Amrun, 2007).

2.3 Cengkeh

Klasifikasi dan gambar dari tanaman cengkeh

Divisi : *Spermatophyta*
 Sub Divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledoneae*
 Sub kelas : *Monochlamydae*
 Bangsa : *Caryophyllales*



Suku : Caryophyllaceae
Famili : Myrtaceae
Spesies : *Oleum caryophylli* (L.) Meer. & Perry (Dian & Agustiah, 2018)



Gambar 2. 2 Cengkeh (*Oleum caryophylli*).

Di Indonesia sebanyak 95% tanaman cengkeh (Gambar 2.2) dijadikan sebagai usaha oleh rakyat dalam bentuk perkebunan yang tersebar di seluruh provinsi. Tanaman cengkeh memiliki tinggi 5-10 meter. Bentuk daun tanaman cengkeh adalah bundar seperti telur atau oval. Warnanya kemerahan dan kehijauan. Semua bagian cengkeh seperti daun, bunga, akar memiliki kandungan minyak (Fatimahtuzzahroh, Firani, & Kritianto, 2015)

Cengkeh memiliki banyak bagian salah satunya adalah bagian bunga yang digunakan pada perindustrian rokok. Selain bagian bunga, bagian lain yang digunakan pada cengkeh adalah minyak atsiri yang dimiliki cengkeh. Minyak cengkeh memiliki khasiat seperti insektisida, antibakteri, antioksidan dan antijamur (Nurdjannah, 2016). Dari khasiat diatas maka dapat ditemukan kandungan kimia yang berada di dalam tanaman cengkeh seperti pada Tabel 2.2. Kandungan pada senyawa ekstrak daun cengkeh dapat mengaktifkan sistem imunitas, misalnya menjalankan fungsi dari fagositosis tanpa pengaruh humoral imunitas ataupun seluler imunitas.

Tabel 2. 2 Kandungan senyawa kimia tanaman cengkeh yang berasal dari Indonesia.

Kandungan	Persentase (%)
-----------	----------------

β -caryophyllene	5,34 – 8,64
methyl eugenol	0,04 – 0,08
Caryophyllene oxide	0,06 – 0,32
α -copaene	0,17 – 0,27
Eugenol	77,32 – 82,36
Chavicol	0,13 – 0,18
eugenyl acetate	8,61 – 10,55
Methyl salicylate	0,04 – 0,16
α -humulene	0,65 – 1,04
iso-eugenol	0,02 – 0,24

(Dian & Agustiah, 2018)

2.4 Bawang Dayak

Klasifikasi dan gambar dari bawang dayak

Kerajaan : *Plantae*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Sub divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Monocotyledonae*
 Suku : *Iridaceae*
 Marga : *Eleutherine*
 Jenis : *Eleutherine palmifolia* (L) Merr



Gambar 2. 3 Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*).

Bawang dayak (Gambar 2.3) merupakan jenis bawang yang berasal dari Kalimantan Tengah. Sejak lama masyarakat umum sudah menggunakan bawang dayak sebagai obat-obatan. Hasil penapisan fitokimia pada bagian umbi menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder antara lain : minyak atsiri, flavonoid, tannin, fenolik (Puspawati, Adirestuti, & Menawati, 2013).

Senyawa antioksidan yang berada pada bawang dayak antara lain flavonoid, polifenol, tannin, dll. Banyak berbagai jenis bawang yang digunakan sebagai obat tradisional yang ampuh melawan penyakit. Karena bawang dayak memiliki senyawa atau kandungan antioksidan maka bawang daya mampu untuk meminimalisir terbentuknya tumor atau kanker (Claudea & Yuswi, 2017).

2.5 Daun Kelor

Klasifikasi dan gambar dari daun kelor

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)

Sub kingdom : Tumbuhan berpembuluh

Super divisi : *Spermatophyta*

Divisi : Tumbuh berbunga

Kelas : Berkeping dua/dikotil

Sub kelas : *Dilleniidae*

Ordo : *Capparales*

Famili : *Moringaceae*

Spesies : *Moringa oleifera* (Sugianto, 2016)



Gambar 2. 4 Daun Kelor (*Moringa oleifera*).

Daun kelor (Gambar 2.4) dapat diolah menjadi sayur bahkan obat. Bagian daun, kulit kayu dan biji banyak digunakan sebagai obat yang memiliki khasiat sebagai antioksidan bahkan antidiabetes (Agung et al., 2016). Selain bawang, banyak bahan-bahan lain yang dapat digunakan sebagai obat-obatan tradisional seperti daun kelor. Daun kelor dapat bermanfaat sebagai stimulan jantung, antioksidan, antitumor, antibakteri dan menurunkan kolesterol. Pada daun kelor terdapat kandungan yang dapat digunakan sebagai penghambat radikal bebas dan penghambat timbulnya penyakit (Rizkayanti dkk, 2017).

2.6 Buah Naga Merah

Klasifikasi dan gambar dari buah naga merah

Divisi : *Spermatophyta*

Sub divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Cactales*

Famili : *Cactaceae*

Sub famili : *Hylocereanae*

Genus : *Hylocereus*

Spesies : *Hylocereus polyrhizus* (Kristanto, 2009)



Gambar 2. 5 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Buah naga merah (Gambar 2.5) memiliki kandungan antioksidan lebih tinggi jika dibandingkan dengan buah naga putih. Buah naga merah memiliki salah satu kandungan fenolat yaitu pada dagingnya terdapat antosianin (Sinaga, Luliana, & Fahrurroji, 2015). Pada kulit buah naga merah terdapat kandungan-kandungan seperti antara lain polifenol, vitamin A, vitamin E, vitamin C.

Selain itu, buah naga khususnya pada bagian kulit memiliki khasiat untuk menghindari atau mencegah timbulnya kanker di dalam tubuh manusia (Serta & Bagi, 2014). Menurut penelitian yang telah dilakukan terdapat kandungan antioksidan di dalam kulit buah naga merah dalam bentuk ekstrak dan kandungan antioksidannya lebih banyak dari pada buah naga merah dalam bentuk ekstrak seperti pada Tabel 2.3.

Tabel 2. 3 Hasil uji kandungan ekstrak kulit buah naga merah.

Senyawa Fitokimia	Hasil
Flavonoid	++
Fenol	++
Tanin	+
Alkaloid	-

Keterangan : +/- pada tabel menyatakan kandungan yang terdapat pada ekstrak kulit naga merah (McCranie et al., 2011)

2.7. Kacang Kedelai

Klasifikasi dan gambar dari kacang kedelai

- Ordo : *Polypetales*
- Famili : *Leguminosae*
- Sub-famili : *Popilionoideae*
- Genus : *Glycine*
- Subgenus : *Soja*
- Spesies : *max* (Adie & Krisnawati, 2007)



Gambar 2. 6 Kacang Kedelai (*Glycine max*).

Kedelai (Gambar 2.6) di Indonesia banyak digunakan sebagai bahan untuk membuat tahu, tempe, susu, dll. Pada kacang kedelai terdapat kandungan isoflavon. Kandungan isoflavon yang dimiliki oleh makanan berbeda dengan yang dimiliki oleh biji. Ini dipengaruhi oleh cara pengolahan, proses pengolahan, seperti halnya dalam fermentasi. Fermentasi dapat meningkatkan kandungan isoflavon. Kacang-kacangan dapat memproduksi senyawa fenolik pada saat proses terjadinya perkecambahan. Jika tumbuhan terkena infeksi mikroorganisme akan meningkatkan produksi fenolik, sehingga

diperoleh kacang-kacangan yang memiliki kandungan fenol antioksidan (Wicaksono, Irwan, Fitriani, & Wahyudin, 2017).

2.8 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) (Gambar 2.7) adalah hewan mamalia yang ukurannya lebih kecil dibanding tikus yang biasanya digunakan sebagai hewan penelitian di laboratorium. Mencit memiliki beberapa fungsi diantaranya untuk hewan percobaan dalam penelitian penyakit pada manusia, dan dampak jika diberikan zat pada manusia. Mencit memiliki fisiologis tubuh yang sama dengan manusia oleh sebab itu banyak penelitian yang menggunakan mencit, khususnya mencit jantan. Mencit jantan lebih banyak digunakan pada penelitian karena tidak mengalami siklus hormonal seperti yang dialami oleh mencit betina (Moriwaki *et al.*, 1994). Menurut Arrington (1972) taksonomi mencit dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kindom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Klas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>M. musculus</i>



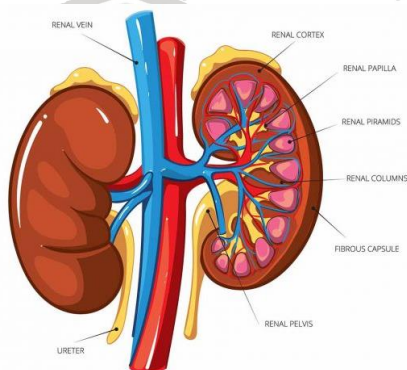
Gambar 2. 7 Mencit (*Mus musculus*).

2.9 Ginjal

Ginjal merupakan sistem ekskresi utama pada manusia. Jika terdapat racun yang masuk ke dalam tubuh manusia maka akan difiltrasi pada ginjal. Racun yang disaring dalam bentuk urine, yaitu

urine primer dan urine sekunder. Lapisan lemak pararenal dan lemak perirenal merupakan lapisan yang membungkus kedua ginjal.

Arteri interlobaris berubah menjadi arteri interlobularis yang akan membentuk glomerulus dari arteriola aferen. Anatomi dari ginjal akan ditunjukkan pada Gambar 2.8. Seperti yang sudah diketahui jika makanan masuk ke dalam tubuh akan terdistribusi ke ginjal. Sehingga pemberian bahan kimia dan antioksidan akan terlihat reaksinya pada ginjal jika ginjal tersebut mengalami kerusakan atau tidak (Diyah, Nuzul Wahyuning, 2016).



Gambar 2. 8 Anatomi ginjal.

2.9.1 Anatomi Ginjal Mencit

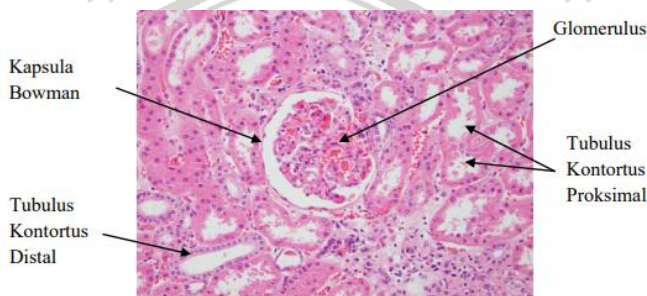
Ginjal mencit memiliki bentuk yang sama dengan manusia tetapi dengan ukuran yang lebih kecil. Bentuknya seperti kacang yang letaknya terdapat pada retroperitoneal di antara kedua sisi tulang punggung. Pada ginjal terdapat komponen penting dalam fungsi untuk memfiltrasi dan reabsorpsi yaitu korpuskulum dan tubulus proksimal yang terletak pada ginjal korteks. Ginjal tidak langsung melekat pada dinding ginjal tetapi dilapisi oleh lemak. Ginjal mencit jantan memiliki ukuran yang lebih besar dan lebih berat. Ukuran ginjal dan bentuk ginjal bervariasi. Ginjal pada mencit dengan jenis kelamin jantan lebih berat dibandingkan dengan ginjal pada mencit dengan jenis kelamin betina (Putri, Busman, & Nurcahyani, 2013).

2.9.2 Histologi Ginjal Mencit

Pada ginjal terdapat glomerulus dan tubulus yang dapat dilihat perubahannya jika ginjal mengalami kerusakan fungsi. Glomerulus di

kelilingi oleh kapsula bowman. Glomerulus memiliki fungsi untuk filtrasi ultra dari plasma dan untuk filtrasi urine primer. Glomerulus ini dilapisi oleh lapisan endothelium berlubang pori-pori (Guyton, 2004).

Sedangkan pada tubulus, terdapat 2 jenis tubulus yaitu *proximal tubule* (TKP) dan *distal tubulus* (TKD). Kedua tubulus ini memiliki masing-masing fungsi yaitu untuk filtrasi urine sekunder dan urine sesungguhnya. Urine primer dihasilkan ketika proses reabsorpsi dan urine sesungguhnya dihasilkan ketika proses augmentasi (Robbins, 2007).



Gambar 2. 9 Histologi organ ginjal mencit normal.

Organ ginjal dikatakan normal apabila terdapat glomerulus, kapsula bowman dan lumen tubulus yang normal serta tidak mengalami nekrosis dan infiltrasi sel seperti terlihat pada Gambar 2.9.

2.10 Kelistrikan

Sifat atau karakteristik kelistrikan dimiliki oleh tubuh makhluk hidup, seperti resistivitas, konduktivitas, konstanta dielektrik dan impedansi.

2.10.1 Resistivitas

Resistivitas adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat arus atau menahan arus listrik yang masuk, dengan rumus:

$$\rho = \frac{RA}{L} \quad (1)$$

Resistivitas merupakan karakteristik (sifat) dari suatu bahan. Tubuh manusia sebagai konduktor listrik yang baik ternyata memiliki kemampuan resistansi ketika terjadi kontak dengan arus listrik. Nilai

resistansi berbeda pada setiap bagian tubuh manusia. Berdasarkan kemampuan resistansinya tubuh dibagi menjadi tiga bagian:

1. Tahanan rendah : serabut syaraf, membran mukosa, otot
2. Tahanan menengah : kulit kering, jaringan lemak, tendon
3. Tahanan tinggi : tulang

Resistivitas adalah karakteristik dari bahan yang memiliki nilai tetap sedangkan resistansi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat arus. Setiap nilai resistansi berbeda-beda tergantung bahannya. Resistansi dipengaruhi oleh luas penampang dan panjang (Cahyono & Arivah, 2017).

2.10.2 Konduktivitas

Konduktivitas adalah kemampuan suatu benda atau bahan dalam menghantarkan arus listrik sebagai hasil perpindahan elektron antar partikel, dengan rumus:

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (2)$$

Konduktivitas listrik didefinisikan sebagai rasio antara densitas suatu bahan dan intensitas aliran listrik dan nilai berbanding terbalik dengan resistivitas listrik.

2.10.3 Konstanta Dielektrik

Konstanta dielektrik adalah perbandingan nilai kapasitansi kapasitor bahan dielektrik dengan kapasitansi pada ruangan hampa, dengan rumus:

$$\epsilon_r = \frac{c.d}{\epsilon_0.A} \quad (3)$$

Konstanta dielektrik merupakan kemampuan suatu benda untuk terpolarisasi. Jika suatu kapasitor diberi tegangan dan diisi dengan bahan dielektrik maka akan terjadi polarisasi. Dielektrik merupakan zat dimana semua partikel berkumpul didalamnya terikat kuat pada molekul penyusunnya.

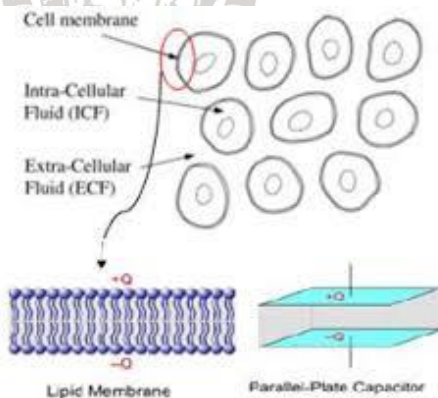
2.10.4 Impedansi Listrik

Besaran listrik lain yang mampu untuk mengetahui karakteristik pada bahan biologis jika dilihat dari biolistrik adalah

impedansi listrik. Nilai impedansi dapat menentukan sehat atau tidaknya suatu organ. Menurut Rizka (2016) nilai impedansi ikan yang tidak segar lebih kecil dibandingkan dengan ikan segar. Nilai impedansi menurun seiring dengan bertambahnya frekuensi (Rizka, 2016).

2.11 Analogi Sel Sebagai Kapasitor

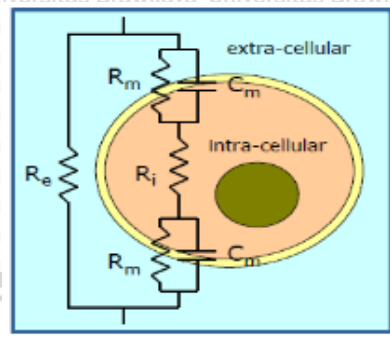
Biolistrik merupakan karakteristik kelistrikan dari sel pada makhluk hidup. Pengamatan karakteristik biolistrik dapat dilihat pada sifat kelistrikan, seperti: resistivitas, konduktivitas, konstanta dielektrik, dan impedansi. Membran sel merupakan salah satu dari membrane biologis yang dapat dianalogikan sebagai kapasitor (Setyani, Widodo, & Saroja, 2000). Pada membran sel terdapat komponen yang bersifat hidrofilik dan hidrofobik yang tersusun atas *bilayer lipids*. Membran sel memiliki fungsi sebagai pembatas cairan *extracellular* dan *intracellular* yang bersifat konduktor yang dapat dianalogikan sebagai pelat sejajar (Rahmatie, Sulistya, & Santoso, 2016). Ilustrasi membran sel dan jaringan memiliki sifat kapasitor dapat terlihat pada Gambar 4.18



Gambar 2.10 Ilustrasi membran sel bersifat kapasitor.

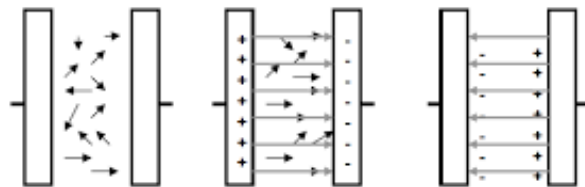
Sifat kapasitor pada membran sel dapat diibaratkan seperti komponen C dan R pada rangkaian listrik parallel. R_m adalah *membrane resistance*, R_e adalah *outside cell resistance*, R_i adalah

inside cell resistance, dan C_m adalah kapasitansi membran lapisan ganda seperti pada Gambar 4.19.



Gambar 2.11 Rangkaian ekivalen dengan sel.

Kapasitor yang memiliki dua buah pelat sejajar diberikan tegangan sehingga satu sisi pelat lebih positif dan sisi lainnya lebih negative. Ketika diantara dua pelat sejajar diberikan bahan dielektrik yang bersifat isolator dan memiliki dipole berantakan. Ketika diberikan tegangan maka terdapat medan listrik sehingga dipole menjadi beraturan. Medan listrik mengalir dari muatan positif ke muatan negative. Muatan positif akan berkumpul pada pelat yang lebih negative dan muatan negative akan berkumpul pada pelat yang lebih positif sehingga terjadi polarisasi dan dapat diketahui muatan yang tersimpan di dalam bahan dielektrik tersebut (Chanif, Sarwito, & K, 2014) seperti pada Gambar 4.20.



Gambar 2.12 Sistem kapasitor.

Polarisasi dapat terjadi karena adanya medan listrik dari luar.

Organ ginjal yang sebelumnya memiliki muatan yang tidak beraturan

akan mengalami polarisasi muatan negatif ke pelat positif dan muatan positif ke pelat negatif. Sel dikatakan rusak jika sel tersebut kehilangan kemampuan untuk berpolarisasi, sehingga nilai konstanta dielektrik mengalami penurunan.

2.12 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu atom, molekul, senyawa atau unsur yang memiliki elektron tidak berpasangan. Radikal bebas tidak akan berhenti berinteraksi dengan sel lain jika tidak diberi antioksidan sehingga akan membentuk sebuah rantai ketika berinteraksi dengan sel lain sehingga terbentuklah rantai radikal bebas. Untuk mengurangi atau menghindari radikal bebas dari dalam tubuh dibutuhkan antioksidan (Wahdiningsih, 2011). Contoh macam-macam radikal bebas seperti Tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Kelompok Oksiden Reaktif.

O_2^*	Radikal Superoksida (<i>Superoxide radical</i>)
*OH	Radikal hidroksil (<i>Hydroxyl radical</i>)
ROO^*	Radikal peroksida (<i>Peroxyl radical</i>)
H_2O_2	Hidrogen peroksida (<i>Hydrogen peroxide</i>)
1O_2	Oksigen tunggal (<i>Singlet oxygen</i>)

2.13 Efek Zeeman

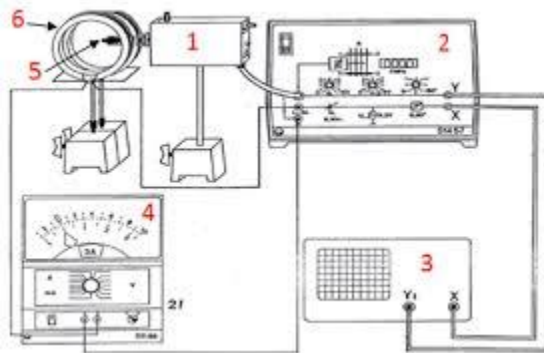
Dalam medan magnetik, spin dapat menyimpang ke kanan atau ke kiri tergantung arah dari medan magnet yang diberikan sehingga spin dapat berupa *spin up* atau *spin down* momen magnetik dari atom dan medan magnet eksternal (Schwarz & Trappe, 2006). Dengan mengetahui sifat magnetik suatu atom, maka akan diketahui atom atau material buatan akan masuk dalam golongan ferromagnetic, paramagnetic, atau diamagnetic. Efek Zeeman merupakan proses terpecahnya tingkat energi elektron pada sub kulit atom yang dikenai oleh medan magnet (Clegg & Brimblecomb, 1989). Medan magnet timbul akibat arus yang mengalir pada kumparan Helmholtz sehingga

menyebabkan terjadinya efek Zeeman pada kulit-kulit atom dari sampel uji (Selly, Abdurrouf, & Juswono, 2015).

2.14 ESR

ESR dapat dikatakan sebagai studi tentang transisi langsung antara tingkat Zeeman elektronik. Dalam hal konkret dapat dikatakan bahwa ESR dan NMR mempelajari energi yang diperlukan untuk mereorientasi elektron dan partikel magnetik nuklir, masing-masing, dalam sebuah medan magnet (Poole, 1983).

Prinsip kerja dari ESR (*Electron Spin Resonance*) yaitu terdapat dua kumparan pada ESR, yaitu kumparan Helmholtz dan kumparan RF. Kumparan Helmholtz akan menghasilkan medan magnet ketika dialiri oleh arus. Medan magnet tersebut akan mengenai sampel sehingga terjadi efek Zeeman yaitu pemecahan tingkat energy elektron pada sub kulit akibat medan magnet. Sedangkan kumparan RF akan menghasilkan gelombang RF yang akan mengenai elektron yang tidak berpasangan setelah mengalami efek Zeeman. Elektron yang tidak berpasangan tersebut akan mengalami eksitasi dalam jangka waktu yang tidak lama. Setelah mengalami eksitasi, elektron tersebut akan mengalami deeksitasi sesuai dengan aturan AufBau. Pada saat proses deeksitasi terjadi elektron akan mengeluarkan energi gelombang RF, sehingga gelombang RF dari hasil deeksitasi akan berpadu dengan gelombang RF dari kumparan RF dan menghasilkan kurva *Lisajous*. Semakin dalam cekungan pada kurva *Lisajous* maka semakin banyak radikal bebas yang terdapat pada sampel atau organ yang diteliti (Utomo, Retnowati, & Juswono, 2013). Berikut gambar dari rangkaian ESR yang akan ditunjukkan pada Gambar 2.10.



Gambar 2. 13 Rangkaian ESR.

Keterangan :

1. ESR unit
2. Pengendali ESR
3. Osiloskop
4. Multimeter
5. Solenoid untuk tempat sampel
6. Kumparan Helmholtz

Radikal bebas dapat dideteksi dengan *Electron Spin Resonance*. ESR merupakan metode penelitian tentang molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Metode ini memanfaatkan medan magnet yang akan mengakibatkan elektron beresonansi. Kondisi resonansi terpenuhi jika $\epsilon = \Delta E$ dimana $\epsilon = h\nu$ merupakan energy gelombang elektromagnetik dan $\Delta E = g\mu_B B_0$ merupakan beda energi diantara kedua spin elektron, diman g dan B merupakan faktor landed an magneton bohr (Hadi, Juswono, & Widodo, 2012). Data yang didapat dari ESR adalah nilai arus (I) dan frekuensi (f) kemudian dihitung besarnya medan magnet eksternal (B) (Cristiya, Yudi, & Juswono, 2013) dengan persamaan:

$$B = \mu_0 \frac{3}{5} \frac{n}{r} \quad (4)$$

Dimana:

$\mu_0 = 1,2566 \times 10^{-6} \text{ T.m/A}$

n = jumlah lilitan pada kumparan ($n = 320$)

r = jari-jari kumparan Helmholtz ($r = 6,8 \text{ cm}$)

I = arus yang mengalir pada kumparan (A)

Nilai medan magnet (B) tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai faktor- g dengan persamaan:

$$g = \frac{hf}{\mu_B} \quad (5)$$

Dimana :

h = konstanta plank ($h = 6,625 \times 10^{-34} \text{ J.s}$)

μ_B = magneton Bohr ($\mu_B = 9,273 \times 10^{-24} \text{ J/T}$)

f = frekuensi saat terjadi resonansi (Hz)

2.15 Kreatinin

Kerusakan pada ginjal dapat dilihat dengan melakukan uji kreatinin. Kreatinin menggunakan darah dalam bentuk serum yang diambil dari jantung mencit. Kreatinin menunjukkan fungsi dari ginjal dalam menjalankan tugasnya. Kadar kreatinin memiliki batas normal, jika kadar kreatinin melebihi atau kurang dari batas normal maka ginjal kehilangan fungsinya khususnya fungsi untuk filtrasi dan dapat dikatakan rusak. Kreatin merupakan bahan untuk membuat kreatinin (Putu et al., 2013)



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Laboratorium Biofisika dan Laboratorium Fisika Lanjutan Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran pada bulan November 2018 hingga Januari 2019. Laboratorium Biologi UIN sebagai tempat pengamatan mikroskopis dan pembuatan preparat pada bulan February.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

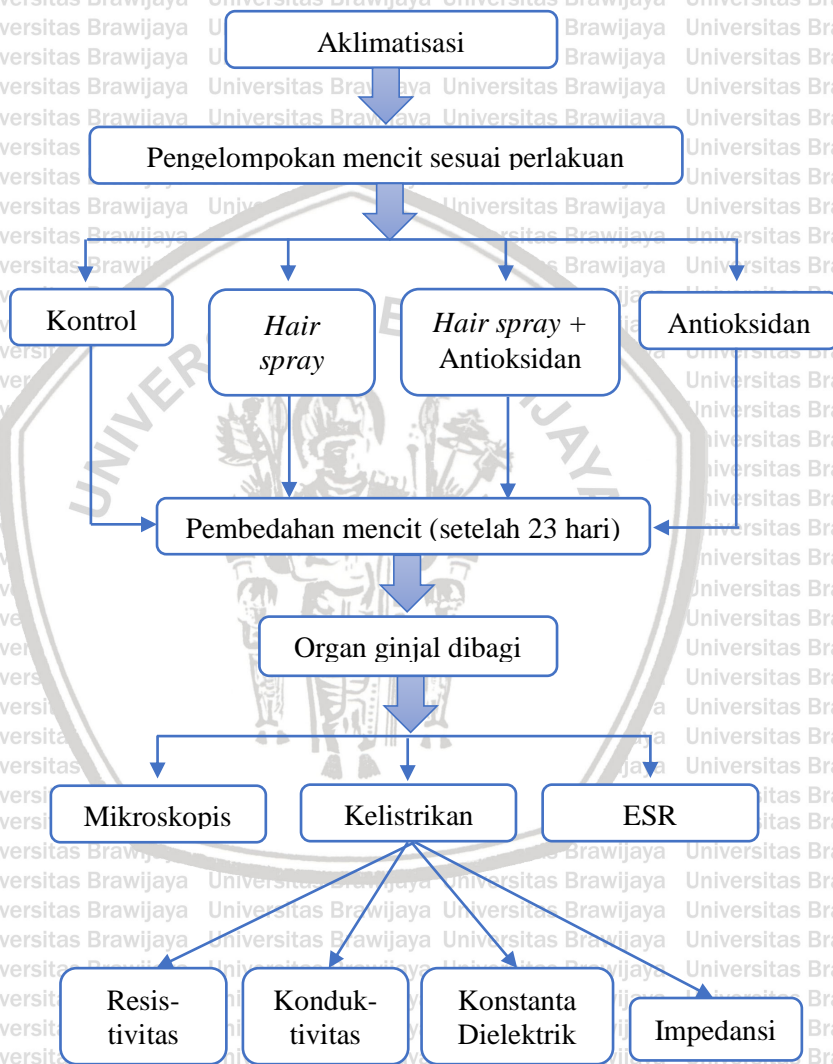
Pada penelitian ini digunakan beberapa alat yang terdiri dari *chamber* untuk pengasapan, delapan buah kandang mencit, tempat makan dan tempat minum mencit, sonde lambung (*stomach tube*), timbangan digital, mikroskop, gelas objek, alat-alat bedah, alat preparasi, ESR (*Electronic Spin Resonance*), pengendali ESR, masker, sarung tangan latex, pipet tetes, tabung durham, multimeter, kapasitansi meter, *cover glass*, *power supply*, kapasitor, kumparan kecil (kumparan RF), kumparan besar (kumparan Helmholtz), kabel penghubung dan *oscilloscope*.

Sedangkan bahan yang digunakan terdiri dari mencit (*Mus musculus*) jantan usia 2-3 bulan, serbuk kayu, pelet, *hair spray*, aquades, alkohol, PbS, pewarna, preparat, kalibrator DPPH, ekstrak cengkeh, ekstrak bawang dayak, ekstrak daun kelor, ekstrak kulit buah naga merah dan ekstrak kacang kedelai.

3.3 Tahapan Penelitian

Adapun tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini pada Gambar 3.1 yaitu dimulai dari persiapan awal yaitu persiapan alat dan bahan serta pengelompokkan mencit. Mencit dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol adalah kelompok mencit yang tidak dipapar oleh *hair spray* tanpa pemberian antioksidan, kelompok TA adalah kelompok mencit yang dipapar oleh *hair spray* tanpa antioksidan, kelompok HA adalah kelompok mencit yang dipapar oleh *hair spray* dengan pemberian antioksidan dengan dosis

yang bervariasi, dan kelompok TH adalah kelompok mencit yang tidak dipapar *hairspray* dengan pemberian antioksidan. Lalu mencit diaklimatisasi selama 1 minggu.



Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian.

Setelah itu mencit diberi perlakuan yaitu pada tahap pertama mencit dipapar *hairspray* tanpa pemberian antioksidan. Tahap kedua

mencit dipapar *hairspray* dengan pemberian antioksidan. Sedangkan pada tahap ketiga mencit tidak dipapar *hairspray* dengan pemberian antioksidan. Proses perlakuan ini dilakukan selama satu bulan. Setelah perlakuan selesai hewan uji coba mencit dibedah dan diambil organ ginjal mencit.

Tahap selanjutnya adalah pembuatan preparat histologi ginjal. Setelah preparat ginjal mencit telah jadi, dilakukan pengamatan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop. Proses pengamatan dengan mikroskop dilakukan dengan menggunakan perbesaran 400x.

Selain itu, ginjal mencit diamati apakah mengalami kerusakan atau tidak dengan melihat sifat kelistrikan dari ginjal mencit. Sifat kelistrikan yang diamati yaitu konduktivitas, resistivitas dan permittivitasnya dengan menggunakan alat uji kelistrikan yang ada.

Terakhir, mengamati apakah ada radikal bebas pada ginjal mencit dengan menggunakan alat ESR (*Electro Spin Resonance*). Radikal bebas dapat diamati dengan melihat apakah ada elektron yang berpindah atau tidak dengan mengamati bentuk sinyal yang dihasilkan oleh ESR (*Electro Spin Resonance*). Selanjutnya data yang diperoleh dari pengamatan akan dianalisis dan penelitian selesai.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pengelompokkan Hewan Uji Coba Mencit

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu dipersiapkan alat dan bahan penelitian yang terdiri dari kandang mencit, chamber, pakan mencit, sekam, tempat makan dan minum mencit. Setelah itu mencit yang telah ada dimasukkan ke dalam kandang yang telah disediakan dengan pembagian kelompok yang telah ditetapkan. Berikut adalah tabel pengelompokkan hewan uji coba mencit (Tabel 3.1).

Tabel 3. 1 Pengelompokkan hewan uji coba mencit.

Kelompok	Nama	Perlakuan
Kontrol	K	Tanpa perlakuan apapun
Paparan <i>hairspray</i>	H	Tanpa antioksidan, dengan <i>hairspray</i> 5 kali semprot
Paparan <i>hairspray</i> dengan antioksidan	HA1	Paparan <i>hairspray</i> 5 kali semprot dengan antioksidan dosis 73,71 mg
	HA2	Paparan <i>hairspray</i> 5 kali semprot dengan antioksidan dosis 110,57 mg
	HA3	Paparan <i>hairspray</i> 5 kali semprot dengan antioksidan dosis 147,42 mg
	HA4	Paparan <i>hairspray</i> 5 kali semprot dengan antioksidan dosis 184,28 mg
	HA5	Paparan <i>hairspray</i> 5 kali semprot dengan antioksidan dosis 221,13 mg
Dengan antioksidan	A	Tanpa paparan <i>hairspray</i> dengan antioksidan

3.4.2 Penentuan dan Pemberian Dosis Antioksidan

Penentuan dosis antioksidan yang diberikan kepada mencit berdasarkan perbandingan antara massa mencit dengan massa manusia.

$$\text{Dosis Mencit} = \frac{\text{massa mencit}}{\text{massa manusia}} \times \text{dosis manusia} \quad (6)$$

Dosis antioksidan yang diberikan kepada mencit divariasikan menjadi lima variasi dosis. Antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah pencampuran dari beberapa ekstrak cengkeh, bawang dayak, daun kelor, kulit buah naga merah dan kacang kedelai. Pemberian antioksidan dilakukan selama 2 minggu dengan cara diberikan kepada mencit sebelum terpapar *hairspray*. Antioksidan dimasukkan ke dalam mulut mencit dengan cara disonde yaitu

menggunakan suntikan atau sonde lambung dengan dosis yang berbeda-beda. Berikut tabel konversi dosis Tabel 3.2.

Tabel 3. 2 Konversi dosis manusia ke dosis hewan (Suwita, 2015).

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1.5 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1.0	7.0	12.23	27.8	387.9
Tikus 200 g	0.14	1.0	1.74	3.9	56.0
Marmut 400 g	0.08	0.57	1.0	2.25	31.5
Kelinci 1.5 g	0.04	0.25	0.44	1.0	14.2
Manusia 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	1.0

Berikut konversi dosis antioksidan dari manusia ke mencit pada Tabel 3.3.

Tabel 3. 3 Konversi dosis manusia ke dosis mencit.

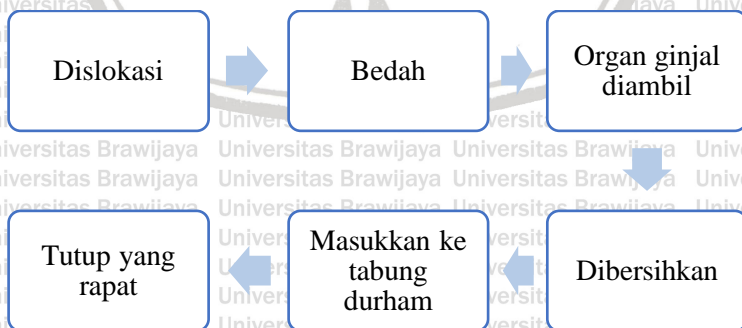
Antioksidan	Dosis Manusia (mg)	D1 (mg)	D2 (mg)	D3 (mg)	D4 (mg)	D5 (mg)
Bawang Dayak	14000	18,20	27,30	36,40	45,50	54,60
Cengkeh	3000	3,90	5,85	7,80	9,75	11,70
Daun Kelor	700	0,91	1,37	1,82	2,28	2,73
Kacang Kedelai	28000	36,40	54,60	72,80	91,00	109,20
Kulit Buah Naga	11000	14,30	21,45	28,60	35,75	42,90
Total	17040	73,71	110,57	147,42	184,28	221,13

3.4.3 Penyemprotan *Hairspray* pada Hewan Uji Coba Mencit

Pada penelitian ini proses paparan hewan uji coba mencit dilakukan setiap hari selama 2 minggu. Pemberian *hairspray* untuk kelompok TA yaitu mencit dimasukkan ke dalam *chamber* tertutup kemudian disemprotkan dengan *hairspray* dengan jumlah semprotan 5 kali, kemudian mencit dibiarkan selama 20 menit didalam *chamber* tertutup. Setelah itu mencit diangkat dan dipindahkan ke kandangnya. Sedangkan untuk kelompok HA sebelum mencit disemprotkan dengan *hairspray* sebanyak 5 kali, mencit terlebih dahulu diberikan antioksidan dengan cara disuntikkan kedalam mulut mencit dengan dosis yang berbeda-beda. Mencit dimasukkan dan dibiarkan dalam *chamber* selama 20 menit supaya mencit dapat menghirup semua *hairspray* yang sudah disemprotkan.

3.4.4 Pembedahan Hewan Uji Coba Mencit

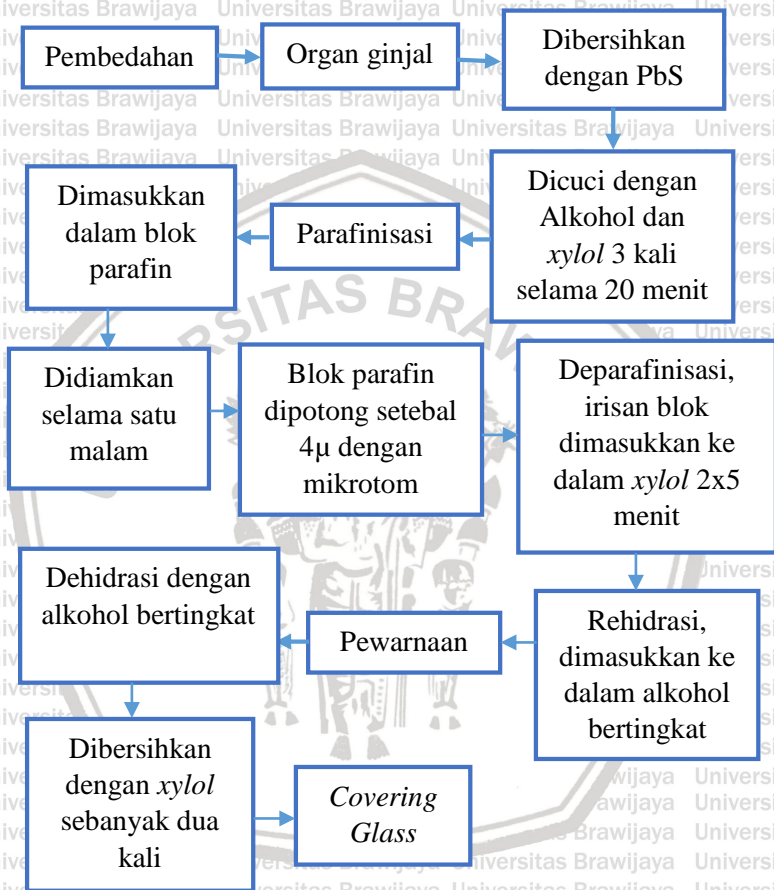
Setelah mendapat perlakuan selama 2 minggu atau 14 hari, pada hari ke-15 mencit akan dibedah dan diambil organ ginjal dari mencit. Perlakuan pertama yang dilakukan adalah mencit dimatikan atau didislokasi dengan cara menekan kepala bagian belakang mencit, setelah itu mencit yang telah mati diletakkan diatas papan bedah kemudian ditahan dengan menggunakan jarum pentul. Lalu mencit dibedah dengan menggunakan alat bedah yang ada dan organ ginjalnya diambil. Organ ginjal yang telah diambil dibersihkan dan direndam menggunakan NaCl kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi formalin supaya organ ginjal dari mencit tetap awet sampai dibuat menjadi preparat. Tahapan-tahapan pembedahan mencit dapat digambarkan dalam diagram.



Gambar 3. 2 Diagram alir proses pembedahan mencit.

3.4.5 Pembuatan preparat histopatologi organ ginjal

Pembuatan preparat organ ginjal dari mencit akan dijelaskan dalam bentuk diagram alir dan dapat dilihat pada diagram.



Gambar 3. 3 Diagram alir pembuatan preparat untuk uji mikroskopis.

3.4.6 Pengamatan mikroskopis preparat organ ginjal mencit

Setelah preparat jadi maka akan dilakukan pengamatan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop. Pengamatan dengan mikroskop diperbesar 400x. Area pengamatan dibagi menjadi 5

bagian, yaitu bagian atas, bagian tengah, bagian bawah, bagian kiri dan bagian kanan. Hasil pengamatan mikroskopis organ ginjal yang telah diperoleh kemudian dihitung sel yang mengalami kerusakan.

Pengamatan preparat dengan menggunakan mikroskop yaitu langkah pertama preparat yang sudah dimasukkan dalam *covering glass* diletakkan pada *slice glass*. Preparat yang sudah siap kemudian diamati dengan menggunakan beberapa lapang pandang, yaitu pada bagian atas, bawah, tengah, kanan dan kiri. Setelah diamati, sel-sel yang rusak dihitung dengan menggunakan persamaan:

3.4.7 Perhitungan Kerusakan Organ Ginjal

Pengamatan dari kerusakan organ ginjal mencit dengan menghitung presentase kerusakan pada glomerulus dan tubulus ginjal. Kerusakan glomerulus dengan mengukur pelebaran kapsul bowman, dimana dijelaskan pada Tabel 3.4.

Tabel 3. 4 Kriteria kondisi glomerulus.

Jarak Glomerulus (µm)	% Kerusakan
<6	0%
6 – 12	20%
12 – 18	40%
18 – 24	60%
24 – 30	80%
>30	100%

Masing-masing preparat ginjal mencit diambil 5 lapang pandang dan dihitung rata-ratanya. Sedangkan kerusakan pada tubulus dapat dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ Kerusakan tubulus} = \frac{\sum \text{tubulus yang menyempit}}{\sum \text{tubulus yang teramati}} \times 100\% \quad (7)$$

3.4.8 Pengamatan ESR

Setelah sifat kelistrikan organ ginjal dari mencit diamati, selanjutnya yang diamati adalah radikal bebas pada ginjal mencit. Radikal bebas dapat dilihat dengan menggunakan alat *Electron Spin Resonance* (ESR). Hasil tampilan yang dikeluarkan oleh ESR adalah dalam bentuk sinyal dan dari sinyal tersebut dapat dilihat elektron yang berpindah-pindah. Gambar dari ESR dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

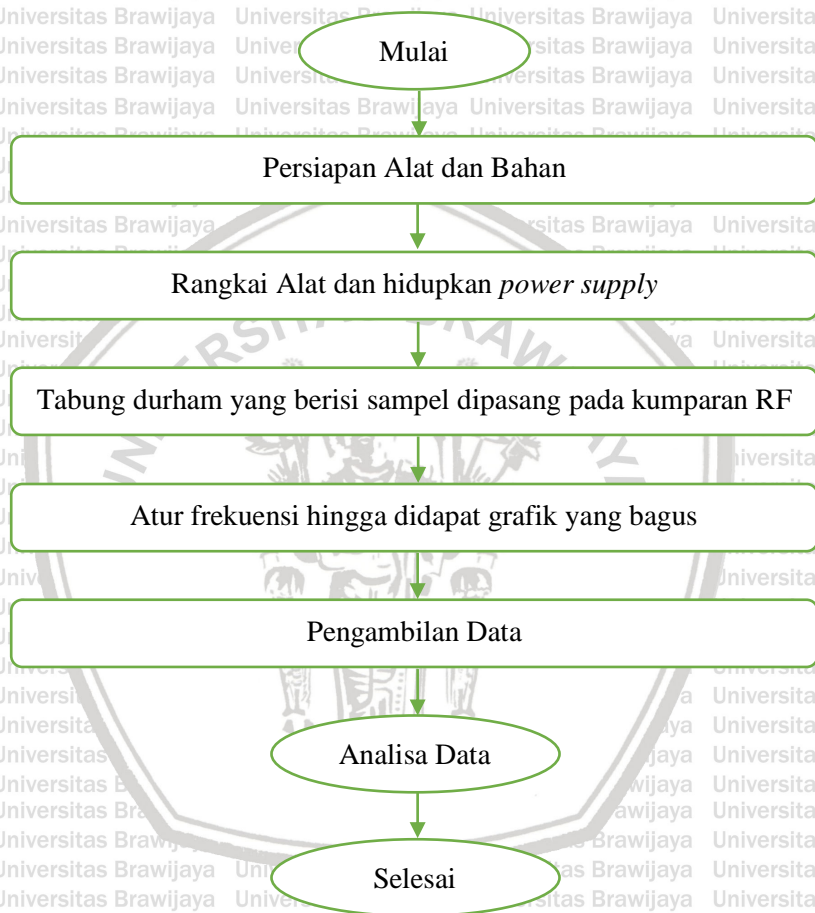


Gambar 3. 4 Electron Spin Resonance.

Pengamatan dengan ESR (*Electron Spin Resonance*) menggunakan tipe Leybold-Heracus dengan frekuensi 23.8 MHz dan arus maksimal 2 A. Peralatan yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu sebelum penelitian sampel dilakukan. ESR Unit, pengendali ESR, *oscilloscope*, multimeter, kumparan kecil (kumparan RF) dan kumparan besar (kumparan Hemholtz) dirangkai dengan kabel penghubung hingga didapat rangkaian tertutup. Tabung durham yang berisi kalibrator DPPH dimasukkan ke dalam kumparan RF lalu kumparan RF tersebut ditancapkan pada alat ESR Unit. Kalibrator DPPH ini berfungsi mengkalibrasi ESR Unit untuk mengecek tingkat keakuratan alat. Dua buah kumparan besar (Hemholtz) yang sudah disusun secara parallel diletakkan di depan ESR Unit secara berdekatan. Input ESR seperti arus, amplitudo dan beda fase diubah-ubah pada pengendali ESR sesuai dengan kebutuhan (Hadi et al., 2012).

Pengamatan ESR dilakukan untuk mengukur radikal bebas pada sampel organ limpa mencit. Semua peralatan yang digunakan dirangkai hingga didapat rangkaian tertutup. Sampel organ dimasukkan pada tabung durham lalu dimasukkan ke dalam kumparan RF dan ditancapkan pada ESR Unit. Frekuensi diatur hingga 23.8 MHz dan arus sebesar 0.2 A agar muncul resonansi dari dua gelombang dengan grafik yang bagus. Kedua gelombang tersebut merupakan gelombang yang didapat dari kumparan RF (gelombang radio frekuensi) dan gelombang yang didapat karena deeksitasi

elektron akibat medan magnet luar dari kumparan Hemholtz. Frekuensi resonansi yang terjadi akibat adanya medan magnet akan ditampilkan pada layar *oscilloscope*. Alur pengamatan dapat dilihat pada Gambar 3.5.



Gambar 3. 5 Alur pengamatan sampel dengan ESR.

3.4.8 Pengamatan sifat kelistrikan organ ginjal mencit

Setelah organ ginjal dari mencit diamati secara miskroskopis dengan menggunakan mikroskop, ginjal mencit diamati sifat kelistrikannya dengan menggunakan alat uji kelistrikan. Sifat kelistrikan yang dilihat antara lain konduktivitas, resistivitas dan permitivitas. Jika sel rusak maka tidak terjadi sifat kelistrikan pada

ginjal menciit, tetapi jika terjadi sifat kelistrikan maka sel normal atau tidak mengalami kerusakan.

3.4.9 Analisa data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini diolah menggunakan *Microsoft Office Excel* dalam bentuk grafik. Grafik yang diperoleh antara lain, grafik antara kerusakan ginjal (%) dengan dosis antioksidan yang bervariasi dan grafik antara sifat kelistrikan (konduktivitas, resistivitas dan permitivitas) dengan dosis antioksidan yang dibuat masing-masing.





BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

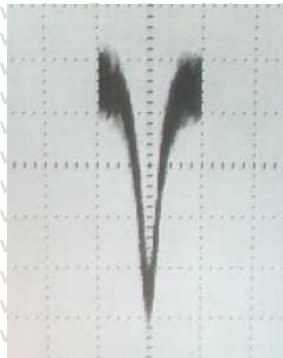
4.1 Kalibrasi Alat ESR

Alat yang digunakan untuk mendeteksi radikal bebas pada sampel penelitian ini adalah ESR (*Electron Spin Resonance*). Sebelum alat ESR digunakan perlu dilakukan kalibrasi untuk mengukur keakuratan alat sebagai alat uji. Pada kalibrasi ESR digunakan sampel acuan DPPH (*diphenyl picrilhydrazyl*). DPPH merupakan senyawa kimia organik dan biasa dikenal sebagai radikal yang bagus dan stabil.

Tabel 4. 1 Hasil kalibrasi DPPH.

Frekuensi (MHz)	Arus (A)	Medan Magnet (T)	Faktor g Literatur	Faktor g Eksperimen	Faktor Kalibrasi
25,98	0,199	0,000842	2,0036	2,2044	0,9514

Hasil kalibrasi DPPH menunjukkan nilai faktor g DPPH literature adalah 2,0036, sedangkan faktor g eksperimen adalah 2,2044, maka didapatkan faktor kalibrasi sebesar 0,9514. Nilai faktor g kalibrasi yang mendekati 1 menandakan bahwa alat cukup akurat untuk digunakan sebagai alat uji pendeteksi radikal bebas. Faktor kalibrasi akan dikalikan dengan faktor g eksperimen sehingga didapatkan nilai faktor g sesungguhnya. Gambar kurva *Lissajous* hasil kalibrasi DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Kurva *Lissajous* kalibrasi DPPH.

4.2 Data Hasil Penelitian

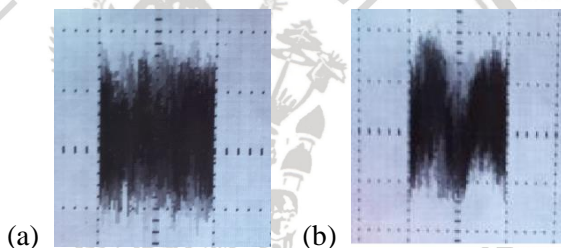
Sebelum diberikan perlakuan mencit diaklimatisasi dan dibagi menjadi 8 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol (K), 1 kelompok hairspray (H), 1 kelompok antioksidan (A) dan 5 kelompok HA (HA1, HA2, HA3, HA4, HA5) dengan pemberian dosis antioksidan yang berbeda-beda. Setiap kelompok terdiri dari lima mencit. Dosis antioksidan yang diberikan berbeda-beda bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian antioksidan terhadap ginjal mencit yang terpapar *hairspray*. Pengaruh antioksidan dapat dianalisa dengan uji kelistrikan, identifikasi radikal bebas, pengamatan mikroskopis dan uji tambahan kreatinin.

Penyemprotan *hairspray* terhadap mencit dilakukan di dalam *chamber* selama 20 menit sebanyak 5 kali penyemprotan per perlakuan. Massa *hairspray* setiap 5 kali penyemprotan adalah 1,162 gram. Volume *chamber* yang digunakan adalah 38,02 cm x 24,02 cm x 25,04 dan didapatkan nilai volume 22867,54 cm³. Nilai massa udara diketahui dengan cara massa jenis udara sebesar 0,001293 gr/cm dikali volume *chamber* sebesar 22867,54 cm³ sehingga didapatkan nilai massa udara sebesar 29,567 gram. Selain itu didapat juga nilai konsentrasi *hairspray* sebesar 37820,35 PPM. Setelah diberi semprotan, mencit dengan perlakuan HA1 sampai HA5 diberi antioksidan campuran dari ekstrak bawang dayak, cengkeh, daun kelor, kulit buah naga merah dan kacang kedelai dengan variasi dosis yang telah ditentukan. Mencit diberikan perlakuan selama 30 hari.

Setelah 30 hari mencit didislokasi dan organ ginjal mencit diambil. Lalu organ ginjal dibagi-bagi sesuai dengan kebutuhan penelitian. Organ ginjal dibagi menjadi beberapa bagian yaitu untuk uji identifikasi radikal bebas dengan ESR, mikroskopis dan kelistrikan.

4.2.1 Jenis Radikal Bebas pada Organ Ginjal Mencit yang Telah Diberikan Perlakuan

Hasil kurva ESR dari organ ginjal mencit dapat menunjukkan kerusakan pada mencit akibat radikal bebas akibat penyemprotan *hairspray* dan penurunan kerusakan akibat pemberian antioksidan. Terbentuknya radikal bebas dapat dilihat dari kecekungan kurva ESR seperti pada Gambar 4.2 (a) menunjukkan tidak terdapat radikal bebas pada sampel, karena pada kurva ESR tidak terlihat cekungan. Pada Gambar 4.2 (b) menunjukkan terdapat radikal bebas pada sampel, karena pada kurva ESR terlihat cekungan.



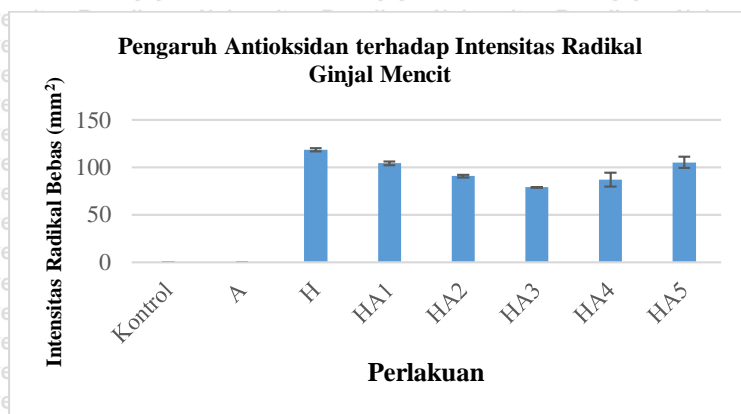
Gambar 4. 2 (a) Kurva ESR kelompok kontrol, **(b)** Kurva ESR kelompok perlakuan.

Jika disebuah sampel didapatkan radikal bebas, maka jenis radikal bebas dapat diidentifikasi dengan menghitung faktor g dan nilai faktor- g akan dikali dengan nilai faktor g kalibrasi untuk mendapatkan nilai faktor g sebenarnya. Nilai faktor g yang diperoleh akan dibandingkan dengan faktor g literatur. Jenis radikal bebas yang teridentifikasi pada organ ginjal mencit adalah radikal bebas jenis $O_2^{\cdot -}$. Jenis radikal bebas dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Jenis radikal bebas dari hasil penelitian.

No	Perlakuan	Faktor-g eksperimen	Faktor-g literatur	Jenis Radikal
1	Kontrol	-	-	-
2	A	-	-	-
3	H	1,5271	1,501-1,75	O ₂ ⁻
4	HA1	1,5363	1,501-1,75	O ₂ ⁻
5	HA2	1,5356	1,501-1,75	O ₂ ⁻
6	HA3	1,5695	1,501-1,75	O ₂ ⁻
7	HA4	1,5186	1,501-1,75	O ₂ ⁻
8	HA5	1,5356	1,501-1,75	O ₂ ⁻

Semakin dalam kecekungan suatu kurva ESR dapat menyatakan intensitas radikal bebas dari sampel yang diukur. Semakin cekung maka tingkat aktivitas radikal bebas semakin besar. Pada Gambar 4.3 dapat dilihat intensitas radikal bebas dari kecekungan kurva ESR. Pada perlakuan kontrol (K) dan antioksidan (A) tidak ditemukan radikal bebas sehingga tidak ada kecekungan pada kurva ESR. Pada perlakuan dosis 147,42 mg (HA3) ditemukan sedikit radikal bebas, sedangkan radikal bebas paling banyak ditemukan pada perlakuan *hairspray* (H). Hal ini dapat terjadi karena induksi energi gelombang mikro oleh spektroskopi ESR yang menyebabkan elektron tak berpasangan cenderung menyebarkan diri terhadap medan magnet eksternal dan terbentuk kurva resonansi atau kurva Lissajous (Weckhuysen et al., 2004). Pengamatan ini dapat dilihat resonansi spin elektron antara elektron tidak berpasangan dengan medan magnet eksternal. Jadi semakin banyak elektron yang mengalami transisi spin, maka kurva akan semakin cekung dan semakin banyak elektron bebas pada sampel yang diuji.



Gambar 4. 3 Grafik hubungan antioksidan terhadap intensitas radikal bebas.

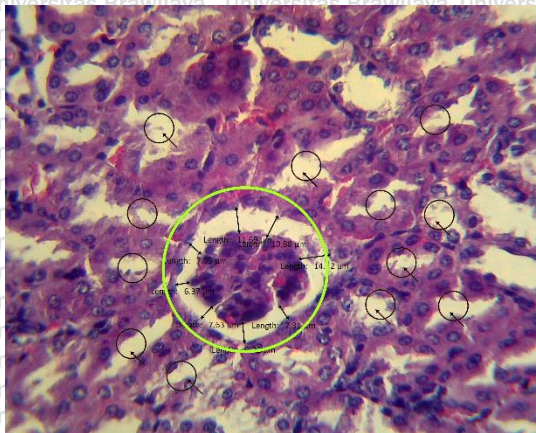
4.2.2 Uji Tambahan

4.2.2.1 Pengamatan Mikroskopis Organ Ginjal Mencit

Pengamatan mikroskop diawali dengan pembuatan preparat yang kemudian preparat diamati dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 40x. Hasil pengamatan glomerulus dan tubulus ginjal mencit menunjukkan bahwa pemaparan *hairspray* dapat menyebabkan kerusakan struktur organ ginjal. Terdapat dua jenis kerusakan yang diakibatkan dari paparan *hairspray* yaitu kerusakan glomerulus dan kerusakan tubulus. Kerusakan glomerulus ditandai dengan pelebaran ruang bowman. Kelainan ini terjadi akibat gangguan utama pada ginjal atau sebagai komplikasi penyakit lain. Sedangkan kerusakan tubulus ditandai dengan penyempitan lumen tubulus.

Apabila kerusakan glomerulus dan tubulus terus menerus meningkat maka akan menyebabkan nekrosis atau kematian sel yang disebut sebagai *Acute Tubular Necrosis* (ATN). ATN ini disebabkan karena kekurangan oksigen dan adanya pengaruh zat toksik dalam sel. Pengukuran kerusakan ginjal menggunakan aplikasi *Optilab*. Lingkaran warna hijau menunjukkan glomerulus. Tanda panah pada glomerulus menunjukkan diameter glomerulus ke kapsula bowman. Lingkaran tanpa tanda panah menunjukkan kerusakan tubulus karena terjadinya penyempitan, sedangkan lingkaran dengan anak panah

menunjukkan tubulus normal dapat dilihat pada Gambar 4.4, Gambar 4.5 dan Gambar 4.6.



Keterangan



Tubulus
Normal

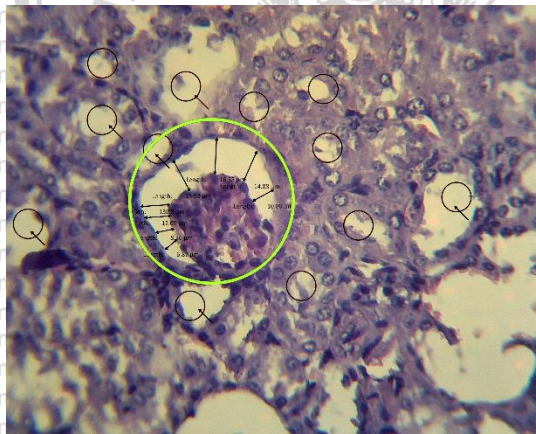


Tubulus
Menyempit



Glomerulus

Gambar 4. 4 Pengamatan mikroskopis ginjal mencit perlakuan kontrol (K).



Keterangan



Tubulus
Normal

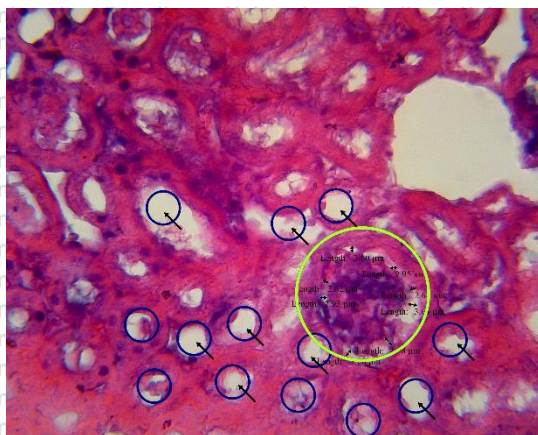


Tubulus
Menyempit



Glomerulus

Gambar 4. 5 Pengamatan mikroskopis ginjal mencit perlakuan hairspray (H).



Keterangan



Tubulus
Normal



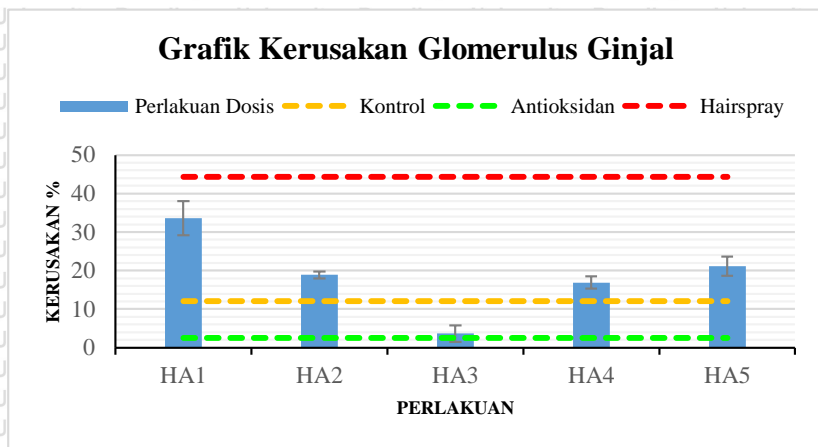
Tubulus
Menyempit



Glomerulus

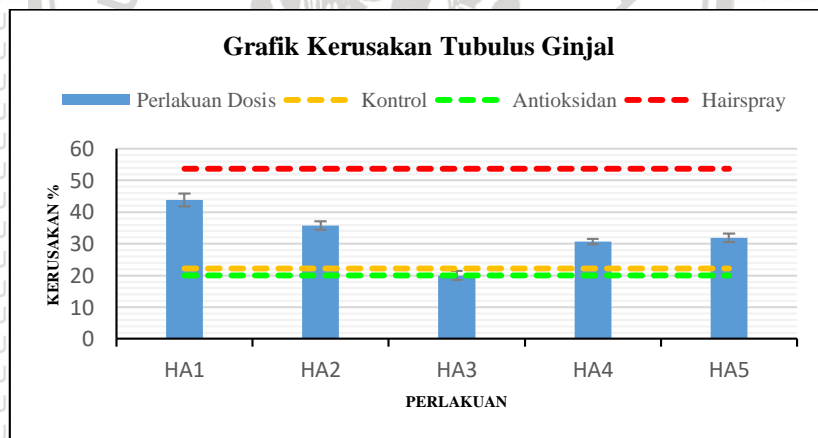
Gambar 4. 6 Pengamatan mikroskopis ginjal mencit perlakuan dosis 147,42 mg (HA3).

Kerusakan pada ginjal dapat dilihat dari perubahan histologi ginjal mencit. Pertama, dengan menguji diameter bowman ke glomerulus. Jika diameter bowman semakin lebar atau melebihi $\geq 6 \mu\text{m}$ maka organ ginjal dapat dikatakan rusak. Pada Gambar 4.7 dapat diketahui bahwa pada pemberian dosis 73,71 (HA1); 110,57 mg (HA3) dan 147,42 (HA3) mengalami penurunan yang berarti organ ginjal semakin sehat. Tetapi pada perlakuan dengan dosis 184,28 mg (HA4) dan 221,13 mg (HA5) mengalami penurunan kembali yang berarti organ ginjal rusak kembali. Hal ini dapat terjadi karena antioksidan yang diberikan berlebihan atau overdosis sehingga berubah menjadi racun dan membuat ginjal kembali rusak. Perlakuan dengan hanya pemberian *hairspray* (H) memiliki kerusakan yang paling tinggi, sedangkan perlakuan dengan hanya pemberian antioksidan (A) terlihat bahwa ginjal sehat karena nilai kerusakan yang rendah. Perlakuan antioksidan (A) menggunakan dosis yang sama dengan perlakuan HA3 sebesar 147,42 mg.



Gambar 4. 7 Hubungan kerusakan glomerulus terhadap dosis antioksidan.

Kedua, dengan menguji kerusakan pada tubulus. Ginjal dapat dikatakan rusak jika tubulus mengalami penyempitan. Pada Gambar 4.8 akan terlihat grafik kerusakan tubulus terhadap dosis antioksidan.



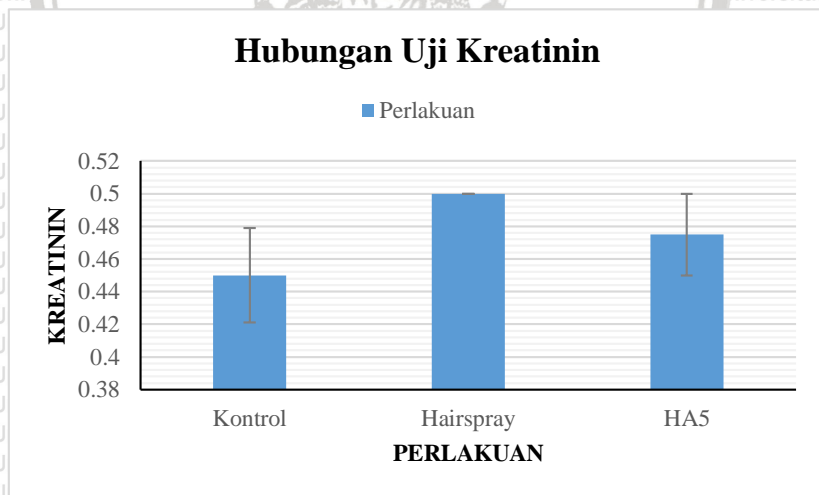
Gambar 4. 8 Hubungan kerusakan tubulus terhadap dosis antioksidan.

Pada perlakuan dengan dosis 73,71 mg (HA1); 110,57 mg (HA2) dan 147,42 mg (HA3) mengalami penurunan yang berarti ginjal semakin sehat atau tubulus yang tadinya mengalami

penyempitan kembali normal. Sedangkan pada perlakuan dengan dosis 184,28 mg (HA4) dan 221,13 mg (HA5) kembali mengalami penurunan yang berarti tubulus kembali menyempit dan organ ginjal rusak. Pada hal ini terjadi fenomena dimana antioksidan berubah fungsi menjadi oksidan yang dapat merusak sel. Selain itu dapat dilihat juga pada perlakuan *hairspray* (H) organ ginjal mengalami kerusakan paling tinggi dan paling rendah pada perlakuan antioksidan (A) yang sejajar dengan perlakuan HA3.

4.2.2.2 Uji Kreatinin

Salah satu cara mengetahui adanya gangguan pada ginjal adalah dengan menghitung laju filtrasi glomerulus (LFG) dengan menggunakan parameter ureum dan kreatinin. Kemampuan fungsi ginjal dihitung dari kadar kreatinin dan kadar nitrogen urea (*blood urea nitrogen* / BUN) di dalam darah. Khan *et al.* (2012) menyebutkan kreatinin lebih akurat untuk mengetahui fungsi ginjal dibandingkan ureum, karena kreatinin diproduksi dari otot pada tingkat konstan dan hampir disaring sepenuhnya pada glomerulus.



Gambar 4. 9 Hubungan uji kreatinin dengan perlakuan.

Protein disimpan dalam otot, metabolisme sel otot akan dirubah menjadi kreatinin di dalam darah. Ginjal akan membuang

kreatinin dari darah ke urin. Apabila fungsi ginjal menurun, kadar kreatinin di dalam darah akan meningkat seperti pada Gambar 4.9. Pada gambar dapat dilihat perlakuan *hairspray* (H) memiliki kadar kreatinin tertinggi yang berarti organ ginjal mengalami penurunan fungsi atau ginjal rusak. Sedangkan pada perlakuan dengan dosis 221,13 mg (HA5) mengalami penurunan tetapi masih di atas kontrol yang berarti perlakuan HA5 ginjal juga mengalami kerusakan. Pada uji kreatinin ini hanya menggunakan 3 perlakuan karena hanya ingin membandingkan organ yang sehat dan rusak. Tetapi ketika hasil kreatinin keluar, hasil uji menunjukkan bahwa perlakuan HA5 juga mengalami kerusakan ginjal.

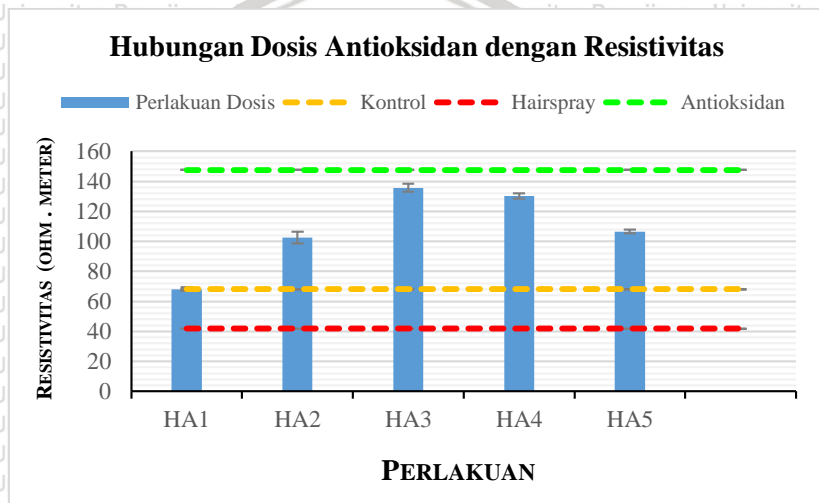
4.2.3 Pengujian Kelistrikan

Kelistrikan pada sel tubuh disebut juga dengan biolistrik. Pengujian kelistrikan pada organ ginjal mencit dapat diamati dengan melihat nilai dari kapasitansi, resistansi dan impedansi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan 2 alat yaitu multimeter dan *picoscope*. Multimeter untuk pengukuran nilai resistivitas, konduktivitas dan konstanta dielektrik. *Picoscope* untuk pengukuran nilai impedansi.

4.2.3.1 Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Resistivitas

Resistivitas adalah kemampuan suatu bahan atau sel untuk menghambat arus listrik. Jika resistivitas kehilangan kemampuan untuk menghambat arus maka terjadi kebocoran arus yang diindikasikan dengan kerusakan membran. Sehingga jika suatu membran atau organ rusak, nilai resistivitasnya menurun. Pada Gambar 4.10 akan terlihat adanya kenaikan dan penurunan pada nilai resistivitas. Terlihat pada pemberian antioksidan dengan dosis 73,71 mg (HA1); 110,57 mg (HA2) dan 147,42 mg (HA3) mengalami peningkatan nilai resistivitas bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan *hairspray* (H). Pada kelompok perlakuan dengan dosis 184,28 mg (HA4) dan 221,13 mg (HA5) mengalami penurunan nilai resistivitas. Semakin besar nilai resistivitas suatu bahan maka semakin sulit bahan tersebut menghantarkan arus listrik. Begitu pula sebaliknya apabila nilai resistivitasnya rendah maka semakin mudah bahan tersebut menghantarkan arus listrik. Jika dihubungkan pada kemampuan biolistrik akan didapatkan kesimpulan bahwa semakin

sehat suatu sel maka semakin baik kemampuan menghambatnya yang berarti semakin tinggi nilai hambatan atau resistivitas organ ginjal menciit maka organ semakin sehat. Tetapi jika dilihat pada perlakuan dosis 184,28 mg (HA4) dan 221,13 mg (HA5) mengalami penurunan, yang sebelumnya pada perlakuan HA1, HA2 dan HA3 sudah mengalami peningkatan. Hal ini bermakna bahwa pada perlakuan HA1, HA2 dan HA3 organ ginjal menciit semakin sehat tetapi pada perlakuan HA4 dan HA5 muncul fenomena dimana antioksidan berubah menjadi racun atau mengalami overdosis sehingga nilai resistivitas mengalami penurunan.

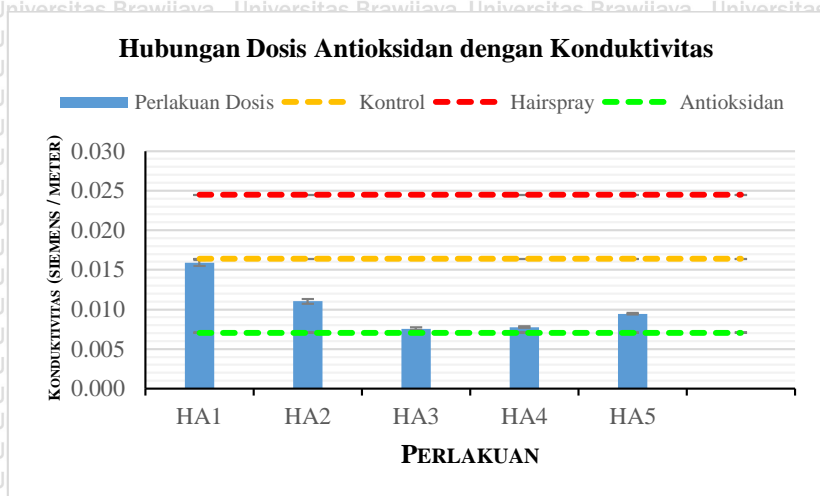


Gambar 4. 10 Grafik hubungan antioksidan terhadap resistivitas.

4.2.3.2 Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Konduktivitas

Konduktivitas merupakan kemampuan suatu sel untuk menghantarkan arus listrik. Jika diibaratkan pada membran sel, yang dimana membrane sel tersusun atas molekul-molekul lipida berlapis ganda (*bilayer lipids*) yang dapat diibaratkan sebagai pelat sejajar dan terdiri atas komponen hidrofobik dan hidrofilik. Peran membran sel sebagai batas antara dua bahan konduktor menyebabkan membran sel bersifat seperti kapasitor. Sehingga, ketika suatu sel rusak akan mengalami kebocoran arus yang mengakibatkan nilai konduktivitas

meningkat. Jadi nilai konduktivitas berbanding terbalik dengan nilai resistivitas yang dapat dilihat pada Gambar 4.11.



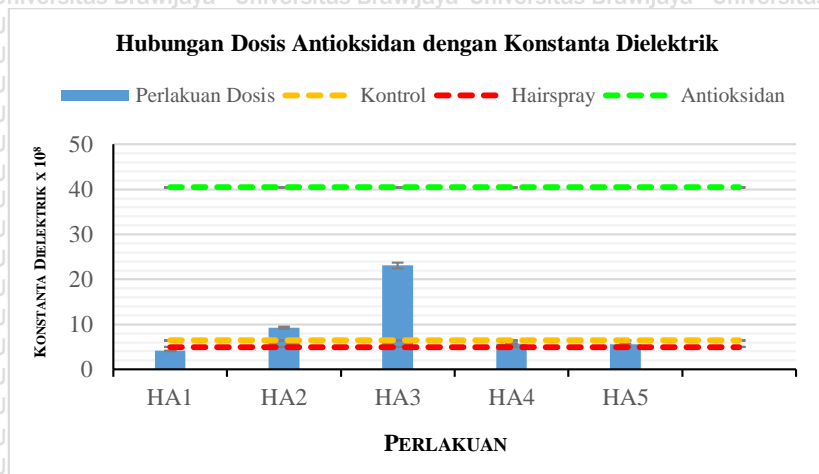
Gambar 4.11 Grafik hubungan antioksidan terhadap konduktivitas.

Pada kelompok perlakuan *hairspray* (H) nilai konduktivitas paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (K). Ketika diberi dosis 73,71 mg (HA1); 110,57 mg (HA2) dan 147,42 mg (HA3) mengalami penurunan terhadap nilai konduktivitas. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil nilai konduktivitas maka semakin kecil kemampuan suatu sel untuk menghantarkan arus listrik dan menunjukkan bahwa sel semakin sehat. Selain itu, semakin tinggi nilai dosis antioksidan maka nilai konduktivitas semakin turun. Tetapi, ketika diberikan dosis 184,28 mg (HA4) dan 221,13 mg (HA5) nilai konduktivitas mengalami peningkatan. Hal ini berarti pada perlakuan HA4 dan HA5 muncul fenomena dimana mencit menerima dosis antioksidan yang berlebihan, sehingga antioksidan tidak berfungsi sebagai obat melainkan menjadi oksidan yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel.

4.2.3.3 Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Konstanta Dielektrik

Konstanta dielektrik adalah kemampuan suatu bahan dielektrik untuk membentuk dua kutub (*dipole*) sehingga terpolarisasi.

Polarisasi dapat terjadi pada bahan yang diletakkan pelat sejajar dan diberi tegangan sehingga menghasilkan medan listrik. Ketika medan listrik terjadi maka kutub-kutub pada suatu bahan akan membentuk *dipole* dan dapat terdeteksi muatan listrik yang tersimpan. Jika suatu sel kehilangan kemampuan untuk menyimpan muatan maka sel rusak dan nilai konstanta dielektrik semakin kecil. Pada Gambar 4.12 akan ditunjukkan pengaruh pemberian antioksidan terhadap nilai konstanta dielektrik.

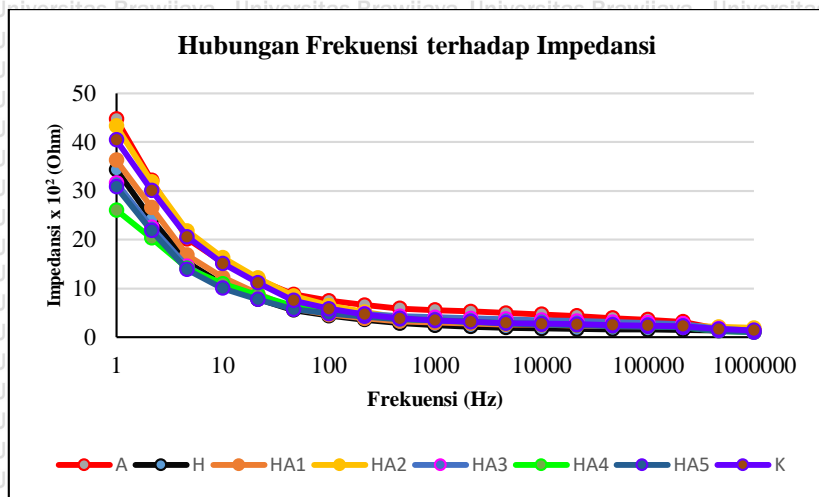


Gambar 4. 12 Grafik hubungan antioksidan dengan konstanta dielektrik.

Pada perlakuan *hairspray* (H) nilai konstanta dielektrik cukup kecil, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (K). Sedangkan pada perlakuan antioksidan (A) nilai konstanta dielektriknya paling tinggi diantara perlakuan yang lainnya. Pada perlakuan dosis 73,71 mg (HA1); 110,57 mg (HA2) dan 147,42 mg (HA3) nilai konstanta dielektrik mengalami peningkatan. Hal ini berarti pada perlakuan HA1, HA2 dan HA3 sel semakin sehat. Tetapi pada perlakuan dengan dosis 184,28 mg (HA4) dan 221,13 mg (HA5) nilai konstanta dielektrik kembali turun hal ini diakibatkan dosis antioksidan dalam jumlah berlebihan sehingga merusak fungsi antioksidan sebagai obat dan dapat merusak sel.

4.2.3.4 Pengaruh Antioksidan Terhadap Nilai Impedansi

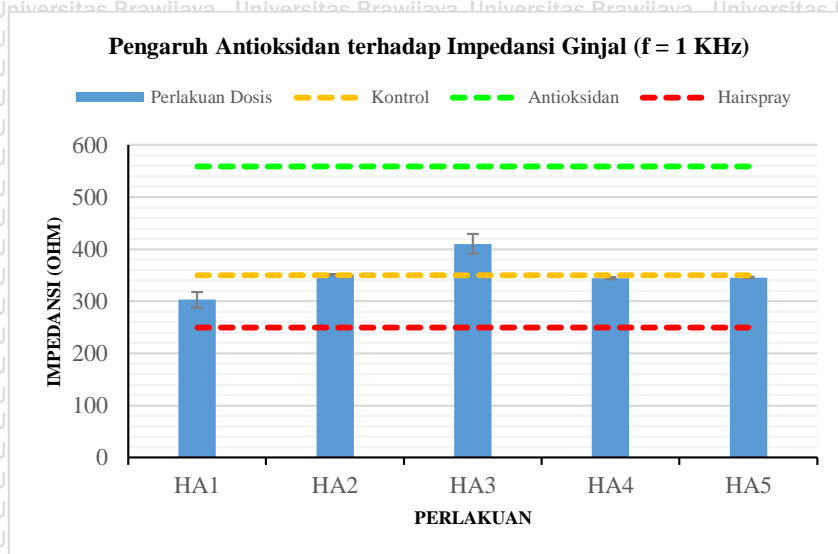
Pada Gambar 4.13 dapat dilihat bahwa nilai impedansi menurun seiring dengan bertambahnya nilai frekuensi. Penurunan nilai impedansi saat frekuensi diperbesar disebabkan karena adanya membran sel yang bersifat seperti kapasitor. Membran sel diibaratkan seperti kapasitor dengan dua pelat sejajar yang bersifat konduktor.



Gambar 4. 13 Hubungan frekuensi terhadap impedansi.

Jika diperhatikan, pada frekuensi kecil nilai impedansi tidak dapat terlihat dengan jelas ini dikarenakan nilai impedansi pada frekuensi kecil atau pada frekuensi awal masih dipengaruhi oleh kapasitansi alat sehingga belum didapatkan hubungan antara frekuensi terhadap impedansi. Mengacu pada penelitian Rizka Rahmatie nilai impedansi dapat teramati lebih jelas pada frekuensi lebih dari 1000 Hz sehingga dilakukan perbesaran pada frekuensi 1000 Hz terhadap perlakuan dosis antioksidan pada Gambar 4.14. Pada perlakuan *hairspray* (H) didapatkan nilai impedansi paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada perlakuan HA1, HA2 dan HA3 nilai impedansi mengalami peningkatan. Hal ini menyatakan bahwa antioksidan bekerja di dalam organ ginjal mencit. Tetapi pada perlakuan HA4 dan HA5 nilai impedansi kembali turun dikarenakan

overdose atau antioksidan berubah menjadi oksidan dan derajat stress oksidatif meningkat.



Gambar 4. 14 Hubungan dosis antioksidan terhadap nilai impedansi pada frekuensi 1000 Hz.

4.3 Pembahasan

4.3.1 Proses Terbentuknya Radikal Bebas

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) adalah suatu molekul yang relatif tidak stabil dengan atom yang pada orbit terluarnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Molekul yang kehilangan pasangan tersebut menjadi tidak stabil dan radikal, supaya stabil molekul ini selalu berusaha mencari pasangan elektronnya dengan cara merebut elektron dari molekul lain (Khaira, 2010). Radikal bebas cenderung menimbulkan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan-kerusakan yang terus-menerus. Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan yang menyebabkan sistem pertahanan tubuh tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas (Wahdiningsih, 2011). Radikal bebas biasanya merusak molekul makro pembentuk sel

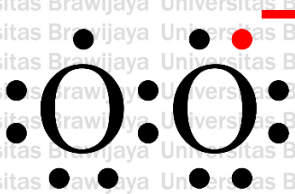
yaitu protein, karbohidrat (polisakarida), lemak dan *deoxyribo nucleic acid* (DNA).

Sebenarnya tubuh manusia secara terus menerus memproduksi radikal bebas pada saat proses sintesis energi oleh mitokondria atau proses detoksifikasi, selain itu dapat terbentuk dari senyawa xenobiotik, metabolisme obat-obatan dan fagositasi. Dalam keadaan normal pembentukan radikal bebas di dalam tubuh akan diikuti oleh pembentukan antioksidan sehingga terjadi keseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, sehingga radikal bebas tidak akan mengambil elektron dari molekul lainnya. Tetapi radikal bebas dari luar tubuh yang membuat terjadinya ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan di dalam tubuh. Sehingga menyebabkan laju peningkatan produksi radikal bebas semakin cepat. Kelebihan radikal bebas dan kurangnya antioksidan dapat memicu terjadinya stres oksidatif (Widayanti, 2010).

Pada penelitian ini radikal bebas eksternal dipicu oleh *hairspray* sebagai polusi udara. Kandungan kimia di dalam *hairspray* contohnya antara lain *alcohol*, keratin, *perfume*, *lauramine oxide* dan *cocamide DEA* (Murphy, 1991). Kandungan-kandungan tersebut zat berbahaya yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh. Senyawa oksigen reaktif berasal dari oksigen. Oksigen ini diperlukan untuk menghasilkan ATP yang merupakan sumber energi bagi kebanyakan makhluk hidup, melalui proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di mitokondria. Oksigen adalah suatu radikal yang memiliki 2 elektron yang tidak berpasangan. Untuk membentuk ikatan kovalen, diperlukan 2 elektron yang harus terletak pada satu orbital dengan putaran yang berlawanan, hal ini menyebabkan oksigen hanya dapat menerima elektron berupa pengalihan 1 elektron. Reduksi oksigen dalam proses fosforilasi oksidatif memerlukan pengalihan 4 elektron. Pengalihan ini tidak dapat dilakukan sekaligus. Pada keadaan tertentu pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terjadi senyawa oksigen reaktif (Lukitasari, 2009).

Bentuk senyawa oksigen reaktif yang dikenal adalah *singlet oxygen* ($^1\text{O}_2$), anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan hidroksil (OH^\cdot) (Andarina & Djauhari, 2017). Pada penelitian ini jenis

radikal bebas yang teridentifikasi adalah anion superoksida (O_2^-). Struktur anion superoksida akan ditunjukkan pada Gambar 4.15.

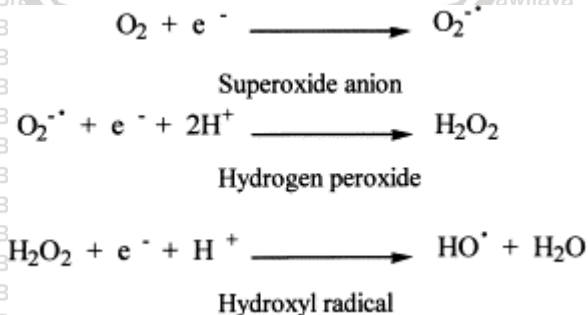


Gambar 4. 2 Struktur anion superoksida.

Radikal anion superoksida dapat terbentuk sesuai reaksi dibawah ini:



Anion superoksida terbentuk apabila satu molekul O_2 menerima satu elektron. Superoksida bersifat oksidan dan reduktan, dan dapat bereaksi dengan substrat biologis. Reaktifitas O_2^- sangat terbatas karena adanya dismutasi spontan yang dapat terjadi pada Ph fisiologis membentuk H_2O dan O_2 . Hidrogen peroksida dibentuk bila O_2^- mendapat elektron lain ditambahkan 2 atom oksigen dan 2 atom hidrogen. Hidrogen peroksida memiliki *life span* hingga dengan 10 detik, waktu ini pada skala molekular sangat lama sehingga menyebabkan kerusakan sel. Sementara itu, radikal hidroksil adalah oksidan yang sangat reaktif, tidak stabil, dan dapat beraksi dengan semua substansi biologis (Magnani, Gaydou, & Claude, 2000). Pada Gambar 4.16 akan terlihat reaksi turunan ROS.



Gambar 4. 3 Turunan ROS.

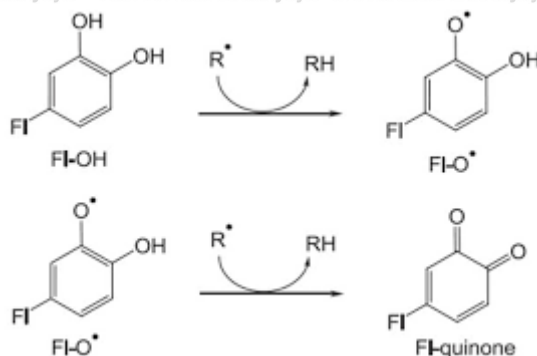
Radikal bebas dapat terbentuk di dalam ginjal karena ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif (Ilyas, 2008). Membran plasma umumnya bersifat sangat rentan terhadap oksidasi asam lemak tidak jenuh, karena sebagian besar komponennya adalah PUFA. Apabila atom hidrogen pada karbon alfa metilen dari ikatan rangkap PUFA hilang, maka akan terbentuk sebuah radikal alkil (R^{\bullet}) yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil (Astuti, 2008).

4.3.2 Mekanisme Pengikatan Radikal Bebas oleh Antioksidan

Flavonoid adalah salah satu jenis antioksidan yang terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terbentuk melalui jalur sikimat. Sikimat diproduksi dari unit sinamoyl-CoA dengan perpanjangan rantai menggunakan 3 malonyl-CoA. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya (Rusdi & Hasan, 1998). Kemampuan senyawa flavonoid dalam meredam radikal bebas erat hubungannya dengan struktur dasar yang dimiliki oleh senyawa flavonoid yang mengandung gugus hidroksil sehingga mampu menyumbangkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan suatu radikal bebas sehingga radikal bebas yang terbentuk memiliki sifat yang stabil. Misalnya radikal bebas yang menyebabkan kanker dimulai dari reaksi oksidasi antara radikal bebas dengan lemak pada membran sel yang dinamakan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak dapat merusak sel normal di sekitarnya. Selain itu akan bereaksi juga dengan protein. Reaksi-reaksi ini bila terjadi akan memicu terbentuknya kanker. Pemberian antioksidan yang salah satu sifat dari flavonoid dapat mengikat radikal bebas sehingga tidak menyerang DNA dan kanker dapat dihindari (Wayan, Putra, Puspawati, Oka, & Parwata, 2018).

Flavonoid mampu menangkap radikal bebas secara langsung melalui sumbangan atom hidrogen. Menurut persamaan reaksi pada Gambar 4.17, di mana R^{\bullet} adalah radikal bebas dan $Fl-OH$ adalah

radikal fenoksil. Aktivitas antioksidan flavonoid bergantung pada penataan gugus fungsi pada struktur intinya. Konfigurasi dan jumlah totalgugus hidroksil secara substansial mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan (Arifin & Ibrahim, 2018). Pada penelitian ini diidentifikasi radikal bebas $O_2^{\cdot -}$ yang merupakan radikal bebas yang membutuhkan donor 1 elektron untuk mencapai kestabilan.



Gambar 4. 4 Penangkapan spesies oksigen reaktif oleh senyawa flavonoid.

4.3.3 Hubungan Sifat Kelistrikan dengan Kerusakan Sel

Kerusakan suatu sel dapat dilihat dari sifat kelistrikan sel tersebut, yaitu resistivitas, konduktivitas, konstanta dielektrik dan impedansi. Resistivitas adalah kemampuan suatu sel untuk menghambat arus listrik. Sifat ini dapat dianalogikan ketika membran sel kehilangan kemampuannya sebagai pembatas antara cairan intraselular dan ekstraselular maka hambatannya rendah sehingga membran sel menjadi lisis. Ketika membran lisis terjadilah kerusakan. Konduktivitas adalah kemampuan suatu sel untuk menghantarkan arus listrik. Hambatan yang diperlukan untuk menghantarkan arus listrik adalah hambatan yang kecil. Sama halnya dengan resistivitas ketika hambatan kecil maka keluar masuknya ion tidak terkontrol sehingga menyebabkan kerusakan sel. Ketika hambatan kecil maka kemampuan untuk menghantarkan arus besar sehingga sel menjadi rusak.

Konstanta dielektrik adalah kemampuan suatu bahan untuk terpolarisasi. Polarisasi dapat terjadi ketika dua buah pelat sejajar diisi dengan bahan dielektrik, lalu diberikan tegangan dan menghasilkan medan listrik. Medan listrik akan menyebabkan terjadinya pengkutuban pada bahan dielektrik sehingga dapat terdeteksi muatan yang tersimpan. Semakin besar nilai konstanta dielektrik maka semakin besar muatan yang tersimpan di dalam organ yang menandakan organ sehat. Impedansi adalah kemampuan suatu sel untuk menghambat dipengaruhi oleh kapasitansi dan induktansi. Kapasitansi berhubungan dengan konstanta dielektrik sedangkan induktansi dengan potensial listrik. Semakin tinggi nilai impedansi maka organ semakin sehat.

4.3.4 Hubungan Sifat Kelistrikan dengan Gambaran Mikroskopis

Ketika zat toksik masuk ke dalam tubuh maka secara otomatis sistem imun di dalam tubuh aktif dan terjadi proses pembuangan racun (fagositosis). Proses fagositosis ini memerlukan oksigen. Oksigen memiliki 2 elektron tidak berpasangan, sehingga akan terjadi tahap demi tahap dimana elektron oksigen akan berpasangan. Tetapi tidak semua tahap sempurna sehingga salah satu hasil reaksi oksigen ada yang tidak sempurna, yaitu anion superoksida (O_2^-). Anion superoksida ini termasuk dalam ROS (*Reactive Oxygen Species*) radikal bebas. Radikal bebas menyebar dan masuk ke membran sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel.

Kerusakan sel dapat dilihat secara klinis dan fisis. Klinis dengan menggunakan uji mikroskopis dan fisis dengan uji kelistrikan. Hubungan antara kelistrikan dengan mikroskopis sebanding dengan nilai konduktivitas. Semakin tinggi nilai konduktivitas maka semakin tinggi persentase kerusakan dari organ ginjal mencit. Konduktivitas adalah kemampuan suatu sel untuk menghantarkan arus listrik, dimana ketika semakin besar kerusakan pada ginjal maka semakin banyak sel yang lisis. Sel lisis merupakan terpecahnya membran sel yang menyebabkan organel-organel di dalam sel pecah atau rusak. Membran sel yang tidak kuat atau tidak kokoh akan menyebabkan

terjadinya kebocoran sehingga antara cairan intraselular dan ekstraselular yang bersifat konduktor tidak memiliki pembatas dan menyebabkan terjadinya pergerakan ion terus menerus secara tidak terkontrol melewati membran sel. Hal ini mengakibatkan naiknya sifat konduktivitas sel.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

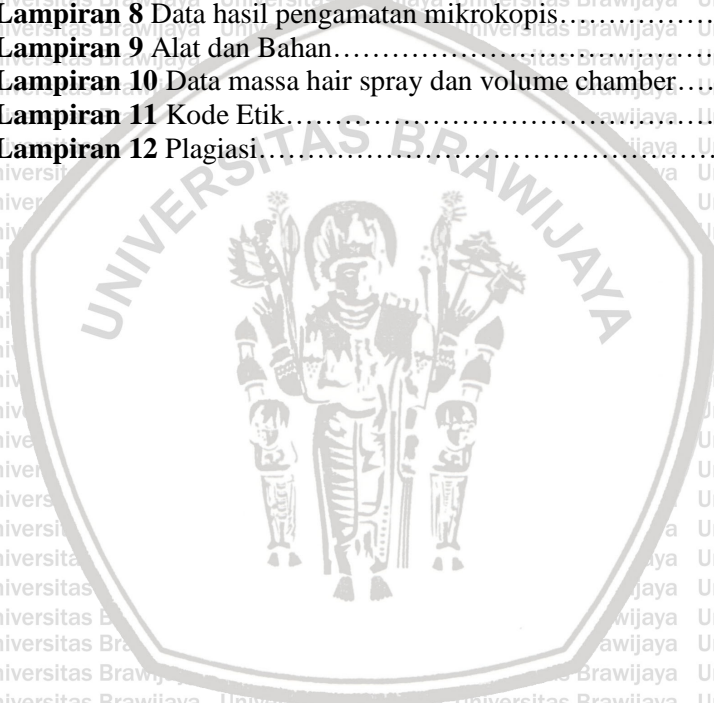
Pemberian *hairspray* menyebabkan terbentuknya radikal bebas anion superoksida pada organ ginjal mencit. Pemberian antioksidan bawang dayang, cengkeh, daun kelor, kulit buah naga merah dan kacang kedelai mampu menangkal radikal bebas yang akibatkan oleh zat berbahaya dari *hair spray*. Dari semua perlakuan yang telah diberikan kepada mencit, dosis antioksidan 147,42 mg (HA3) adalah dosis yang membuat organ ginjal mencit semakin sehat. Hal ini dapat dikatakan seperti itu karena mendekati nilai kelompok antioksidan (A). Pada pemberian dosis HA3, uji kelistrikan resistivitas dengan nilai 135,70; konstanta dielektrik dengan nilai 2.308.827.233,80 dan impedansi mengalami peningkatan dengan nilai 410,34. Sel dikatakan sehat jika nilai impedansi, resistivitas dan konstanta dielektrik tinggi. Pada uji konduktivitas perlakuan HA3 mengalami penurunan dengan nilai 0,0075 yang berarti sel sehat. Pada uji mikroskopis tingkat kerusakan glomerulus dan tubulus terendah terdapat pada perlakuan HA3. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa pada perlakuan HA3 organ ginjal mencit sehat.

5.2 Saran

Penelitian dengan menggunakan antioksidan ada baiknya untuk mengetahui nilai dosis efektif terlebih dahulu sehingga tidak menimbulkan efek *overdose*. Selain itu pada uji kreatinin disarankan untuk dilakukan pada seluruh perlakuan.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data hasil uji kretainin.....	69
Lampiran 2 Data hasil miroskopis tubulus.....	70
Lampiran 3 Data hasil mikroskopis glomerulus.....	71
Lampiran 4 Data hasil pengukuran impedansi.....	72
Lampiran 5 Dosis Antioksidan.....	80
Lampiran 6 Perhitungan sifat kelistrikan (resistivitas, konduktivitas dan konstanta dielektrik).....	81
Lampiran 7 Data hasil intensitas radikal bebas.....	89
Lampiran 8 Data hasil pengamatan mikrokopis.....	90
Lampiran 9 Alat dan Bahan.....	94
Lampiran 10 Data massa hair spray dan volume chamber.....	95
Lampiran 11 Kode Etik.....	96
Lampiran 12 Plagiasi.....	97



DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, Sukandar, D., & Muawanah, A. (2015). "Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam." *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Ilmi Kimia*, 1(2), 130–136. <https://doi.org/DOI:http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3155>
- Adie, M. M., & Krisnawati, A. (2007). Biologi Tanaman Kedelai. *Kedelai – Teknik Produksi Dan Pengembangan*, 45–73. Retrieved from http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/03/dele_3.muchlish-1.pdf
- Agung, A., Oka, G., Made, L., Pendidikan, M., Dokter, P., Hewan, F. K., & Udayana, U. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (Mori1. Agung A, Oka G, Made L, Pendidikan M, Dokter P, Hewan FK, et al. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera L) di Bali (IDENTIFICATION. 2016;5(5):464–73. nga oleifera, 5(5), 464–473. <https://doi.org/2477-6637>
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam dermatologi, 4(1), 39–48.
- Anoze, A. (2008). Long term efficacy of interferon alpha 2b in the treatment of ankylosing spondylitis: Iraqi experience. *New Iraqi Journal of Medicine*, 4(2), 33–36. <https://doi.org/10.1177/1091581813486300>
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). STRUKTUR , BIOAKTIVITAS

DAN ANTIOKSIDAN FLAVONOID STRUCTURE , BIOACTIVITY AND ANTIOXIDAN OF FLAVONOID, 6(1), 21–29.

Astuti, S. (2008). Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas, *I3*(2), 126–136.

Cahyono, B. E., & Arivah, H. N. (2017). Analisa Kualitas Semen Melalui Pengukuran, *2*(2), 57–61.

Chanif, M., Sarwito, I. S., & K, E. S. (2014). Analisa Pengaruh Penambahan Kapasitor Terhadap Proses Pengisian Baterai Wahana Bawah Laut, *3*(1), 1–6.

Claudea, N., & Yuswi, R. (2017). EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia*) DENGAN METODE ULTRASONIC BATH (KAJIAN JENIS PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, *5*(1), 71–78.

Clegg, S. L., & Brimblecombet, P. (1989). + 1 . 2, *28*(14), 7237–7248.

Cristiya, Y., Yudi, A., & Juswono, U. P. (2013). Pengaruh Jenis Asam Amino Terhadap Jenis Radikal Bebas Pada Asap Rokok Kretek. *FMIPA Fisika Universitas Brawijaya*.

Dian, A., & Agustiah, A. (2018). Uji Aktivitas Minyak CENGKEH (*Oleum caryophylli*) TERHADAP PEROKSIDASI LIPID DARAH TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ISONIAZID-RIFAMPISIN ACTIVITY TEST OF CLOVE OIL (*Oleum caryophylli*) AGAINST LIPID

PEROXIDATION IN RATS (*Rattus norvegicus*) B.

Diyah, Nuzul Wahyuning, dkk. (2016). Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol. 3 No. 1 Juli 2016 6. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 3(1), 6–11.

Fatimahtuzzahroh, Firani, N. K., & Kritianto, H. (2015). Efektifitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Fase Proliferasi. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(2), 92–98.

Hadi, R., Juswono, U. P., & Widodo, C. S. (2012). Pengaruh Bengkuang (*Pachyrhizus erosus* L. Urban) dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Kandungan Radikal Bebas Pada Daging Ayam yang Diradiasi dengan Ultraviolet. *FMIPA Fisika Universitas Brawijaya*.

Hardiyanti, F. (2015). PEMANFAATAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM SEDIAAN HAND AND BODY CREAM PEMANFAATAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*), 1, 1–136.

Ilyas, S. (2008). PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C DAN E TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGIS GINJAL MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIPAJANKAN MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG), 2–7.

Khaira, K. (2010). Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan.

Jurnal Saintek.

Kristanto, D. (2009). *Buah Naga : Pembudidayaan di Pot dan di Kebun*. Jakarta: Penebar Swadaya. Retrieved from <https://books.google.co.id/books?id=vSwXBWQ4GygC&pg=PA11&dq=klasifikasi+buah+naga&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwi9-qfWm5jeAhVMpY8KHVMEC3oQ6AEIKTAA#v=onepage&q=klasifikasi buah naga&f=false>

Lukitasari, A. (2009). Pembentukan senyawa oksigen reaktif. *Kedokteran Syiah Kuala*, 9.

Magnani, L., Gaydou, E. M., & Claude, J. (2000). Spectrophotometric measurement of antioxidant properties of flavones and flavonols against superoxide anion, *411*, 209–216.

McCranie, K. D., Faulkner, M., French, D., Daddis, G. A., Gow, J., & Long, A. (2011). <No Title>. *Journal of Strategic Studies*, 34(2), 281–293. <https://doi.org/10.1080/01402390.2011.569130>

Miklavcic, D., & Pavselj, N. (2006). Electric Properties Of Tissues. *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*.

Murphy, C. S. (1991). Silicone Hairspray Compositions. *United States Patent*, (19).

Nurdjannah, N. (2016). Diversifikasi Penggunaan Cengkeh. *Perspektif*, 3(2), 61–70. <https://doi.org/10.21082/p.v3n2.2004.61-70>

- Prof.Dr. Ir. Kesuma Sayuti, M., & Dr. Ir. Rina Yennina, Ms. (n.d.).
ALAMI dan SINTETIK.
 Puspawati, R., Adirestuti, P., & Menawati, R. (2013). KHASIAT
 UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)
 SEBAGAI HERBAL ANTIMIKROBA KULIT. *Jurnal Ilmiah
 Farmasi*, 1(1), 31–37.
 Putri, D. M., Busman, H., & Nurcahyani, N. (2013). GAMBARAN
 HISTOLOGIS TUBULUS PROKSIMAL GINJAL MENCIT
 (*Mus musculus* L.) JANTAN YANG TERPAPAR
 KEBISINGAN. *Seminar Nasional Sains & Teknologi V
 Lembaga Penelitian Universitas Lampung*, (November), 362–
 369. Retrieved from [http://satek.unila.ac.id/wp-
 content/uploads/2014/03/4-129.pdf](http://satek.unila.ac.id/wp-content/uploads/2014/03/4-129.pdf)
 Putu, N., Oktaviani, D., Saikhu, D. H., Husen, A., Kes, M., Winarni,
 D., ... Sains, F. (2013). JURNAL PENGARUH EKSTRAK
 DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa*) TERHADAP
 KADAR KREATININ PLASMA DAN STRUKTUR
 HISTOLOGI JARINGAN GINJAL MENCIT (*Mus musculus*)
 DIABETIK.
 Rahayuningsih, N. (2017). Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Pepino
 Terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Putih Jantan, 17,
 492–501.
 Rahmatie, R., Sulistya, A. P. C., & Santoso, D. R. (2016). Analisis
 Nilai Impedansi Listrik pada Daging Ikan Nila yang Disimpan
 dalam Lemari Es, 6(02), 117–124.

Rejeki, E. S. R. I., Farmasi, F., & Setia, U. (2010). Analisis Etanol dalam Hair Tonic dan Hair Spray secara Kromatografi Gas Analysis of Ethanol in Hair Tonic and Hair Spray by Gas Chromatography. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(1), 11–15.

Rusdi, M., & Hasan, T. (1998). Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Batang Boehmeria virgata Comparison of Extraction Methods on Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Boehmeria virgata Stem, 1(1), 16–24.

Sari, D. K., & Wibowo, A. (2016). Perawatan Herbal pada Rambut Rontok. *Majority*, 5(5), 129–134.

Schwarz, & Trappe. (2006). Pengamatan Efek Zeeman.

Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., & Citraningtyas, G. (2013). Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [Anredera cordifolia(Ten.)Steenis.]. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi - UNSRAT*, 2(01), 18–23.

Selly, J. B., Abdurrouf, & Juswono, U. P. (2015). Efek Ekstrak Sterculia quadrifida R.Br. terhadap Kandungan Radikal Bebas Organ Hati akibat Pencemaran Logam Berat. *Natural B*, 3(2), 175–181.

Serta, B., & Bagi, M. (2014). Manfaat Kulit Buah-Buahan, 1–10.

Setyani, N. F., Widodo, C. S., & Saroja, G. (2000). Studi karakteristik biolistrik membran telur bebek sebagai bahan dielektrik, 1–4.

- Silvia, D., Katharina, K., Hartono, S. A., Anastasia, V., & Susanto, Y. (2016). PENGUMPULAN DATA BASE SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI, *I*(2), 181–198.
- Sinaga, A. A., Luliana, S., & Fahrurroji, A. (2015). Losio Antioksidan Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton and Rose). *Pharm Sci Res*, *2*(1).
- Sugianto, A. K. (2016). Kandungan Gizi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Berdasarkan Posisi Daun dan Suhu Penyeduhan. *Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor*.
- Syarifah, A. (2015). Syarifah Am inah et. al. : Kandungan Nut risi dan Sifat Fungsional Tanam an Kelor (*M oringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan*, *5*(30), 35–44.
- Umayah, E., & Moch. Amrun. (2007). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus* (Haw .) (Antioxidant Activity Assay of Dragon Fruit Extract (*Hylocereus undatus*. *Ilmu Dasar*, *8*(1), 83–90.
- Voigt, T., Katscher, U., & Doessel, O. (2011). Quantitative Conductivity and Permittivity Imaging of the Human Brain Using Electric Properties Tomography. *Magnetic Resonance in Medicine*.
- Wahdiningsih, S. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J . Sm). *Skripsi*, *16*(3), 153–156.



Wayan, I., Putra, E., Puspawati, N. M., Oka, I. M., & Parwata, A. (2018). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FLAVOIOD PADA SEBAGAI AGEN ANTIKANKER DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST, 6, 46–56.

Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan.

Wicaksono, F. Y., Irwan, A. W., Fitriani, R., & Wahyudin, A. (2017). Respons Tanaman Kedelai (*Glycine max*) Varietas Wilis Akibat Pemberian Berbagai Dosis Pupuk N, P, K dan Pupuk Guano pada Tanah Inceptisol Jatinangor. *Jurnal Kultivasi*, 16(2), 333–339. Retrieved from <http://jurnal.unpad.ac.id/kultivasi/article/viewFile/13223/6677>

Wickett, R. R., Sramek, J. A., Trobaugh, C. M., & Johnson, S. C. (1992). Measurement of the adhesive strength of junctions, 178(June), 169–178.

Widayanti, E. (2010). Oksidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant. *FK Unissula Semarang*.